



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C12N 15/00		A2	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/02666 (43) Date de publication internationale: 21 janvier 1999 (21.01.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/01460 (22) Date de dépôt international: 7 juillet 1998 (07.07.98) (30) Données relatives à la priorité: 97/08816 7 juillet 1997 (07.07.97) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): BIO MERIEUX [FR/FR]; Chemin de l'Orme, F-69280 Marcy l'Etoile (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): PARAH- NOS-BACCALA, Glauca [FR/FR]; 75, cours Duguesclin, F-69003 Lyon (FR). KOMURIAN-PRADEL, Florence [FR/FR]; 114, chemin du Pavillon, F-69250 Poleymieux au Mont d'Or (FR). BEDIN, Frédéric [FR/FR]; 6, rue Gaspard André, F-69002 Lyon (FR). SODOYER, Mireille [FR/FR]; 5, rue du Brûlet, F-69110 Sainte Foy les Lyon (FR). OTT, Catherine [FR/FR]; 103, avenue Berthelot, F-69007 Lyon (FR). MALLET, François [FR/FR]; 84, rue Anatole France, F-69100 Villeurbanne (FR). PERRON, Hervé [FR/FR]; 15, rue de Boyer, F-69005 Lyon (FR). MANDRAND, Bernard [FR/FR]; 21, rue de la Doua, F-69100 Villeurbanne (FR).		(74) Mandataire: CABINET GERMAIN & MAUREAU; Boîte postale 6153, F-69466 Lyon Cedex 06 (FR). (81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport.</i>	
(54) Title: RETROVIRAL NUCLEIC MATERIAL AND NUCLEOTIDE FRAGMENTS, IN PARTICULAR ASSOCIATED WITH MUL- TIPLE SCLEROSIS AND/OR RHEUMATOID ARTHRITIS, FOR DIAGNOSTIC, PROPHYLACTIC AND THERAPEUTIC USES (54) Titre: MATERIEL NUCLEIQUE RETROVIRAL ET FRAGMENTS NUCLEOTIDIQUES NOTAMMENT ASSOCIES A LA SCLE- ROSE EN PLAQUES ET/OU LA POLYARTHRITE RHUMATOIDE, A DES FINS DE DIAGNOSTIC, PROPHYLAC- TIQUES ET THERAPEUTIQUES (57) Abstract <p>The invention concerns a nucleic material, in isolated or purified state, and a nucleotide fragment comprising a nucleotide sequence selected from the group consisting in (i) the sequences SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO:114, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 141 and SEQ ID NO: 142, (ii) the complementary sequences of sequences (i); and (iii) the sequences equivalent to sequences (ii) and (iii), in particular the sequence having for every series of 100 contiguous monomers, at least 50 %, preferably 70 % homology with sequences (i) and (ii) respectively. The invention also concerns their uses for detecting a retrovirus associated with multiple sclerosis and/or rheumatoid arthritis.</p> (57) Abrégé <p>Matériel nucléique, à l'état isolé ou purifié, et fragment nucléotidique, comprenant une séquence nucléotidique choisie dans le groupe qui consiste en (i) les séquences SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO:114, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 141 et SEQ ID NO: 142, (ii) les séquences complémentaires des séquences (i); et (iii) les séquences équivalentes aux séquences (i) ou (ii), en particulier les séquences présentant pour toute suite de 100 monomères contigus, au moins 50 %, et préférentiellement au moins 70 % d'homologie avec respectivement les séquences (i) ou (ii), et utilisations pour détecter un rétrovirus associé à la sclérose en plaques et/ou la polyarthrite rhumatoïde.</p>			

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce		de Macédoine	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	ML	Mali	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MN	Mongolie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MR	Mauritanie	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MW	Malawi	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	MX	Mexique	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NE	Niger	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NL	Pays-Bas	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NO	Norvège	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	NZ	Nouvelle-Zélande		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PL	Pologne		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	PT	Portugal		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RO	Roumanie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	RU	Fédération de Russie		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SD	Soudan		
DK	Danemark	LR	Libéria	SE	Suède		
EE	Estonie			SG	Singapour		

**MATERIEL NUCLEIQUE RETROVIRAL ET FRAGMENTS NUCLEOTIDIQUES
NOTAMMENT ASSOCIES A LA SCLEROSE EN PLAQUES ET/OU LA
POLYARTHRITE RHUMATOIDE, A DES FINS DE DIAGNOSTIC,
PROPHYLACTIQUES ET THERAPEUTIQUES**

5 La Sclérose en Plaques (SEP) est une maladie démyélinisante du système nerveux central (SNC) dont la cause complète reste encore inconnue.

De nombreux travaux ont étayé l'hypothèse d'une étiologie virale de la maladie, mais aucun des virus
10 connus testés ne s'est avéré être l'agent causal recherché: une revue des virus recherchés depuis des années dans la SEP a été faite par E. Norrby et R.T. Johnson.

Récemment, un rétrovirus, différent des rétrovirus
15 humains connus a été isolé chez des patients atteints de SEP. Les auteurs ont aussi pu montrer que ce rétrovirus pouvait être transmis in vitro, que des patients atteints de SEP produisaient des anticorps susceptibles de reconnaître des protéines associées à l'infection des
20 cellules leptoméningées par ce rétrovirus, et que l'expression de ce dernier pouvait être fortement stimulée par les gènes immédiats-précoces de certains herpesvirus.

Tous ces résultats plaident en faveur du rôle dans la SEP d'au moins un rétrovirus inconnu ou d'un virus
25 ayant une activité transcriptase inverse (RT) détectable selon la méthode publiée par H. Perron et qualifiée d'activité "RT de type LM7".

Les travaux de la Demanderesse ont permis d'obtenir deux lignées continues de cellules infectées par
30 des isolats naturels provenant de deux patients différents atteints de SEP, par un procédé de culture tel que décrit dans le document WO-A-93 20188, dont le contenu est incorporé par référence à la présente description. Ces deux lignées dérivées de cellules de plexus-choroïdes
35 humains, dénommées LM7PC et PLI-2 ont été déposées à l'E.C.A.C.C. respectivement le 22 juillet 1992 et le 8

janvier 1993, sous les numéros 92 072201 et 93 010817, conformément aux dispositions du Traité de Budapest. Par ailleurs, les isolats viraux possédant une activité RT de type LM7 ont également été déposés à l'E.C.A.C.C. sous la
5 dénomination globale de "souches". La "souche" ou isolat hébergé par la lignée PLI-2, dénommée POL-2, a été déposée auprès de l'E.C.A.C.C. le 22 juillet 1992 sous le n° V92072202. La "souche" ou isolat hébergé par la lignée LM7PC, dénommée MS7PG, a été déposée auprès de
10 l'E.C.A.C.C. le 8 janvier 1993 sous le n° V93010816.

A partir des cultures et des isolats précités, caractérisés par des critères biologiques et morphologiques, on s'est ensuite attaché à caractériser le matériel nucléaire associé aux particules virales
15 produites dans ces cultures.

Les portions de génome déjà caractérisées ont été utilisées pour mettre au point des tests de détection moléculaire du génome viral et des tests immunosérologiques, utilisant les séquences d'aminéoacides
20 codées par les séquences nucléotidiques du génome viral, pour détecter la réponse immunitaire dirigée contre des épitopes associés à l'infection et/ou l'expression virale.

Ces outils ont déjà permis de confirmer une association entre la SEP et l'expression des séquences
25 identifiées dans les brevets cités plus loin. Cependant, le système viral découvert par la Demanderesse, s'apparente à un système rétroviral complexe. En effet, les séquences retrouvées encapsidées dans les particules virales extracellulaires produites par les différentes
30 cultures de cellules de patients atteints de SEP, montrent clairement qu'il y a co-encapsidation de génomes rétroviraux apparentés, mais différents du génome rétroviral "sauvage" qui produit les particules virales infectantes. Ce phénomène a été observé entre des
35 rétrovirus répliatifs et des rétrovirus endogènes appartenant à la même famille, voire même hétérologues. La

notion de rétrovirus endogène est très importante dans le contexte de notre découverte car, dans le cas de MSRV-1, on a observé que des séquences rétrovirales endogènes comprenant des séquences homologues au génome MSRV-1, existent dans l'ADN humain normal. L'existence d'éléments rétroviraux endogènes (ERV) apparentés à MSRV-1 par tout ou partie de leur génome, explique le fait que l'expression du rétrovirus MSRV-1 dans les cellules humaines puisse interagir avec des séquences endogènes proches. Ces interactions sont retrouvées dans le cas de rétrovirus endogènes pathogènes et/ou infectieux (par exemple certaines souches écotropes du Murine Leukaemia virus), dans le cas de rétrovirus exogènes dont la séquence nucléotidique peut être retrouvée partiellement ou en totalité, sous forme d'ERVs, dans le génome de l'animal hôte (ex. virus exogène de la tumeur mammaire de la souris transmis par le lait). Ces interactions consistent principalement en (i) une transactivation ou co-activation d'ERVs par le rétrovirus répliatif, (ii) une encapsidation "illégitime" d'ARN apparentés d'ERVs, ou d'ERVs -voire d'ARN cellulaires- possédant simplement des séquences d'encapsidation compatibles, dans les particules rétrovirales produites par l'expression de la souche répliatrice, parfois transmissibles et parfois avec une pathogénicité propre, et (iii) des recombinaisons plus ou moins importantes entre les génomes co-encapsidés, notamment dans les phases de transcription inverse, qui conduisent à la formation de génomes hybrides, parfois transmissibles et parfois avec une pathogénicité propre.

Ainsi, (i) différentes séquences apparentées à MSRV-1 ont été retrouvées dans les particules virales purifiées; (ii) l'analyse moléculaire des différentes régions du génome rétroviral MSRV-1 doit être faite en analysant systématiquement les séquences co-encapsidées, interférantes et/ou recombinées qui sont générées par l'infection et/ou l'expression de MSRV-1, de plus,

certains clones peuvent avoir des parties de séquences défectives produites par la réplication rétrovirale et les erreurs de matrice et/ou de transcription de la transcriptase inverse; (iii) les familles de séquences apparentées à une même région génomique rétrovirale sont les supports d'une détection diagnostique globale qui peut être optimisée par l'identification de régions invariables parmi les clones exprimés et par l'identification de trames de lectures responsables de la production de polypeptides antigéniques et/ou pathogènes qui peuvent n'être produits que par une partie, voire un seul, des clones exprimés et dans ces conditions, l'analyse systématique des clones exprimés dans une région d'un gène donné permet d'évaluer la fréquence de variation et/ou de recombinaison du génome MSRV-1 dans cette région et de définir les séquences optimales pour les applications, notamment diagnostiques; (iv) la pathologie provoquée par un rétrovirus tel que MSRV-1 peut être un effet direct de son expression et des protéines ou peptides produits de ce fait, mais aussi un effet de l'activation, de l'encapsidation, de la recombinaison de génomes apparentés ou hétérologues et des protéines ou peptides produits de ces faits ; ainsi ces génomes associés à l'expression de et/ou l'infection par MSRV-1 sont-ils une partie intégrante de la pathogénicité potentielle de ce virus et donc, constituent des supports de détection diagnostique et des cibles thérapeutiques particulières. De même, tout agent associé à, ou, co-facteur de ces interactions responsables de la pathogénie en cause, tel que MSRV-2 ou le facteur gliotoxique décrit dans la demande de brevet publiée sous le N° FR-2 716 198, peut participer à l'élaboration d'une stratégie globale et très efficace de diagnostic, de pronostic, de suivi thérapeutique et/ou de thérapeutique intégrée de la SEP notamment, mais aussi de toute autre maladie associée aux mêmes agents.

Dans ce contexte, on a fait une découverte parallèle dans une autre maladie autoimmune, la polyarthrite rhumatoïde (PR), qui a été décrite dans la demande de brevet français déposée sous le N°95 02960.

5 Cette découverte montre que, en appliquant des approches méthodologiques similaires à celles qui furent utilisées dans les travaux de la Demanderesse sur la SEP, on a pu identifier un rétrovirus exprimé dans la PR qui partage les séquences décrites pour MSRV-1 dans la SEP et aussi,

10 la co-existence d'une séquence associée MSRV-2 également décrite dans la SEP. En ce qui concerne MSRV-1, les séquences détectées communément dans la SEP et la PR, concernent les gènes *pol* et *gag*. En l'état actuel des connaissances, on peut associer les séquences *gag* et *pol*

15 décrites aux souches MSRV-1 exprimées dans ces deux maladies.

La présente demande de brevet a pour objet différents résultats, supplémentaires par rapport à ceux déjà protégés par les demandes de brevet français :

- 20 - N° 92 04322 du 03.04.1992, publiée sous le N° 2 689 519;
- N° 92 13447 du 03.11.1992, publiée sous le N° 2 689 521;
- N° 92 13443 du 03.11.1992, publiée sous le N° 2 689 520;
- N° 94 01529 du 04.02.1994, publiée sous le N° 2 715 936;
- N° 94 01531 du 04.02.1994, publiée sous le N° 2 715 939;
25 - N° 94 01530 du 04.02.1994, publiée sous le N° 2 715 936;
- N° 94 01532 du 04.02.1994, publiée sous le N° 2 715 937;
- N° 94 14322 du 24.11.1994, publiée sous le N° 2 727 428;
- N° 94 15810 du 23.12.1994, publiée sous le N° 2 728 585;
et
- 30 - la demande de brevet WO-97/06260.

La présente invention concerne tout d'abord un matériel nucléaire, qui peut consister en un matériel rétroviral, à l'état isolé ou purifié, pouvant être appréhendé ou caractérisé de différentes manières :

- 35 - il comprend une séquence nucléotidique choisie dans le groupe qui consiste en (i) les séquences

- SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 117,
SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 130,
SEQ ID NO: 141 et SEQ ID NO: 142 ; (ii) les séquences
complémentaires aux séquences (i) ; et (iii) les séquences
5 équivalentes aux séquences (i) ou (ii), en particulier les
séquences présentant pour toute suite de 100 monomères
contigus, au moins 50 %, et préférentiellement au moins
70 % d'homologie avec respectivement les séquences (i) ou
(ii);
- 10 - il code pour un polypeptide présentant, pour
toute suite contigue d'au moins 30 acides aminés, au
moins 50 %, et de préférence au moins 70 % d'homologie,
avec une séquence peptidique choisie dans le groupe qui
consiste en SEQ ID NO: 113, SEQ ID N°115, SEQ ID NO: 118,
15 SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 135 et SEQ ID NO: 137;
- son gène pol comprend une séquence nucléotidique
identique ou équivalente à une séquence choisie dans le
groupe qui consiste en SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 124 et
leurs séquences complémentaires;
- 20 - l'extrémité 5' de son gène pol commence au
nucléotide 1419 de SEQ ID NO: 130;
- son gène pol code pour un polypeptide
présentant, pour toute suite contigue d'au moins 30 acides
aminés, au moins 50 %, et de préférence au moins 70 %
25 d'homologie, avec la séquence peptidique SEQ ID NO: 113;
- l'extrémité 3' de son gène gag finit au
nucléotide 1418 de SEQ ID NO: 130;
- son gène env comprend une séquence nucléotidique
identique ou équivalente à une séquence choisie dans le
30 groupe qui consiste en SEQ ID NO: 117, et ses séquences
complémentaires;
- son gène env comprend une séquence nucléotidique
qui commence au nucléotide 1 de SEQ ID NO: 117 et finit au
nucléotide au nucléotide 233 de SEQ ID NO: 114;
- 35 - son gène env code pour un polypeptide
présentant, pour toute suite contigue d'au moins 30 acides

aminées, au moins 50 %, et de préférence au moins 70 % d'homologie, avec la séquence SEQ ID NO: 118;

- la région U3R de son LTR 3' comprend une séquence nucléotidique qui se termine au nucléotide 617 de
5 SEQ ID NO: 114;

- la région RU5 de son LTR 5' comprend une séquence nucléotidique qui commence au nucléotide 755 de SEQ ID NO: 120 et finit au nucléotide 337 de SEQ ID NO: 141 ou SEQ ID NO: 142;

10 - un matériel nucléique rétroviral comprenant une séquence qui commence au nucléotide 755 de SEQ ID NO: 120 et qui se termine au nucléotide 617 de SEQ ID NO: 114;

- le matériel nucléique rétroviral tel que défini précédemment est en particulier associé à au moins une
15 maladie auto-immune telle que la sclérose en plaques ou la polyarthrite rhumatoïde.

L'invention concerne aussi un fragment nucléotidique qui répond au moins à l'une des définitions suivantes :

20 - il comprend ou consiste en une séquence nucléotidique choisie dans le groupe qui consiste en (i) les séquences SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 141 et SEQ ID NO: 142 ; (ii)
25 les séquences complémentaires des séquences (i) ; et (iii) les séquences équivalentes aux séquences (i) ou (ii), en particulier les séquences présentant pour toute suite de 100 monomères contigus, au moins 50 %, et préférentiellement au moins 70 % d'homologie avec
30 respectivement les séquences (i) ou (ii);

- il comprend ou consiste en une séquence nucléotidique codant pour un polypeptide présentant, pour toute suite contigue d'au moins 30 acides aminés, au moins 50 %, et de préférence au moins 70 % d'homologie,
35 avec une séquence peptidique choisie dans le groupe qui

consiste en SEQ ID NO: 113, SEQ ID N°115, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 135 et SEQ ID NO: 137.

D'autres objets de la présente invention sont les suivants :

5 - une sonde nucléique pour la détection d'un rétrovirus associé à la sclérose en plaques et/ou la polyarthrite rhumatoïde, susceptible de s'hybrider spécifiquement sur tout fragment précédemment défini et appartenant au génome dudit rétrovirus; elle possède
10 avantageusement de 10 à 100 nucléotides, de préférence de 10 à 30 nucléotides;

 - une amorce pour l'amplification par polymérisation d'un ARN ou d'un ADN d'un rétrovirus associé à la sclérose en plaques et/ou la polyarthrite
15 rhumatoïde, qui comprend une séquence nucléotidique identique ou équivalente à au moins une partie de la séquence nucléotidique d'un fragment défini précédemment, notamment une séquence nucléotidique présentant pour toute
20 suite de 10 monomères contigus, au moins 50 %, de préférence au moins 70 % d'homologie avec au moins ladite partie dudit fragment ; de préférence la séquence nucléotidique d'une amorce de l'invention est choisie
 parmi SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127,
25 SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 132, et SEQ ID NO: 133;

 - un ARN ou ADN, et notamment vecteur de répllication et/ou d'expression, comprenant un fragment génomique du matériel nucléique ou un fragment défini
30 précédemment;

 - un peptide codé par tout cadre de lecture ouvert appartenant à un fragment nucléotidique défini précédemment, notamment un polypeptide, par exemple oligopeptide formant ou comprenant un déterminant
35 antigénique reconnu par des sera de patients infectés par le virus MSRV-1, et/ou chez lesquels le virus MSRV-1 a été

réactivé; un peptide préférentiel comprend une séquence identique, partiellement ou totalement, ou équivalente à une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 113, SEQ ID N°115, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 135 et
5 SEQ ID NO: 137;

- une composition diagnostique, prophylactique, ou thérapeutique, notamment pour inhiber l'expression d'au moins un rétrovirus associé à la sclérose en plaques et/ou à la polyarthrite rhumatoïde, comprenant un fragment
10 nucléotidique défini précédemment;

- un procédé pour détecter un rétrovirus associé à la sclérose en plaques et/ou à la polyarthrite rhumatoïde, dans un échantillon biologique, comprenant les étapes consistant à mettre en contact un ARN et/ou un ADN présumé
15 appartenir ou provenant dudit rétrovirus, ou leur ARN et/ou ADN complémentaire, avec une composition comprenant un fragment nucléotidique défini ci-dessus.

Avant de détailler l'invention, différents termes utilisés dans la description et les revendications sont à
20 présent définis :

- par souche ou isolat, on entend toute fraction biologique infectante et/ou pathogène, contenant par exemple des virus et/ou des bactéries et/ou des parasites, générant un pouvoir pathogène et/ou antigénique, hébergée
25 par une culture ou un hôte vivant ; à titre d'exemple, une souche virale selon la définition précédente peut contenir un agent co-infectant, par exemple un protiste pathogène,

- le terme "MSRV" utilisé dans la présente description désigne tout agent pathogène et/ou infectant,
30 associé à la SEP, notamment une espèce virale, les souches atténuées de ladite espèce virale, ou les particules défectives interférentes ou contenant des génomes co-encapsidés ou encore des génomes recombinés avec une partie du génome MSRV-1, dérivées de cette espèce. Il est
35 connu que les virus et particulièrement les virus contenant de l'ARN ont une variabilité, consécutive

notamment à des taux relativement élevés de mutation spontanée, dont il sera tenu compte ci-après pour définir la notion d'équivalence,

- par virus humain, on entend un virus susceptible
5 d'infecter ou d'être hébergé par l'être humain,

- compte tenu de toutes les variations et/ou recombinaison naturelles ou induites, pouvant être rencontrées dans la pratique de la présente invention, les objets de cette dernière, définis ci-dessus et dans les
10 revendications, ont été exprimés en comprenant les équivalents ou dérivés des différents matériels biologiques définis ci-après, notamment des séquences homologues nucléotidiques ou peptidiques,

- le variant d'un virus ou d'un agent pathogène
15 et/ou infectant selon l'invention, comprend au moins un antigène reconnu par au moins un anticorps dirigé contre au moins un antigène correspondant dudit virus et/ou dudit agent pathogène et/ou infectant, et/ou un génome dont toute partie est détectée par au moins une sonde
20 d'hybridation, et/ou au moins une amorce d'amplification nucléotidique spécifique dudit virus et/ou agent pathogène et/ou infectant, dans des conditions d'hybridation déterminées bien connues de l'homme de l'art,

- selon l'invention, un fragment nucléotidique ou
25 un oligonucléotide ou un polynucléotide est un enchaînement de monomères, ou un biopolymère, caractérisé par la séquence informationnelle des acides nucléiques naturels, susceptible de s'hybrider à tout autre fragment nucléotidique dans des conditions prédéterminées,
30 l'enchaînement pouvant contenir des monomères de structures chimiques différentes et être obtenu à partir d'une molécule d'acide nucléique naturelle et/ou par recombinaison génétique et/ou par synthèse chimique ; un fragment nucléotidique peut être identique à un fragment
35 génomique du virus MSRV-1 considéré par la présente

invention, notamment un gène de ce dernier, par exemple pol ou env dans le cas dudit virus ;

- ainsi un monomère peut être un nucléotide naturel d'acide nucléique, dont les éléments constitutifs sont un sucre, un groupement phosphate et une base azotée; dans l'ARN le sucre est le ribose, dans l'ADN le sucre est le désoxy-2-ribose; selon qu'il s'agit de l'ADN ou l'ARN, la base azotée est choisie parmi l'adénine, la guanine, l'uracile, la cytosine, la thymine; ou le nucléotide peut être modifié dans l'un au moins des trois éléments constitutifs ; à titre d'exemple, la modification peut intervenir au niveau des bases, générant des bases modifiées telles que l'inosine, la méthyl-5-désoxycytidine, la désoxyuridine, la diméthylaminéo-5-désoxyuridine, la diaminéo-2,6-purine, la bromo-5-désoxyuridine et toute autre base modifiée favorisant l'hybridation; au niveau du sucre, la modification peut consister dans le remplacement d'au moins un désoxyribose par un polyamide, et au niveau du groupement phosphate, la modification peut consister dans son remplacement par des esters, notamment choisis parmi les esters de diphosphate, d'alkyl et arylphosphonate et de phosphorothioate,

- par "séquence informationnelle", on entend toute suite ordonnée de monomères, dont la nature chimique et l'ordre dans un sens de référence, constituent ou non une information fonctionnelle de même qualité que celle des acides nucléiques naturels,

- par hybridation, on entend le processus au cours duquel, dans des conditions opératoires appropriées, deux fragments nucléotidiques, ayant des séquences suffisamment complémentaires, s'apparient pour former une structure complexe, notamment double ou triple, de préférence sous forme d'hélice,

- une sonde comprend un fragment nucléotidique synthétisé par voie chimique ou obtenu par digestion ou

coupure enzymatique d'un fragment nucléotidique plus long, comprenant au moins six monomères, avantageusement de 10 à 100 monomères, de préférence 10 à 30 monomères, et possédant une spécificité d'hybridation dans des conditions déterminées ; de préférence, une sonde possédant moins de 10 monomères n'est pas utilisée seule, mais l'est en présence d'autres sondes de taille aussi courte ou non ; dans certaines conditions particulières, il peut être utile d'utiliser des sondes de taille supérieure à 100 monomères ; une sonde peut notamment être utilisée à des fins de diagnostic et il s'agira par exemple de sondes de capture et/ou de détection,

- la sonde de capture peut être immobilisée sur un support solide par tout moyen approprié, c'est-à-dire directement ou indirectement, par exemple par covalence ou adsorption passive,

- la sonde de détection peut être marquée au moyen d'un marqueur choisi notamment parmi les isotopes radioactifs, des enzymes notamment choisis parmi la peroxydase et la phosphatase alcaline et ceux susceptibles d'hydrolyser un substrat chromogène, fluorigène ou luminescent, des composés chimiques chromophores, des composés chromogènes, fluorigènes ou luminescents, des analogues de bases nucléotidiques, et la biotine,

- les sondes utilisées à des fins de diagnostic de l'invention peuvent être mises en oeuvre dans toutes les techniques d'hybridation connues, et notamment les techniques dites "DOT-BLOT", "SOUTHERN BLOT", "NORTHERN BLOT" qui est une technique identique à la technique "SOUTHERN BLOT" mais qui utilise de l'ARN comme cible, la technique SANDWICH ; avantageusement, on utilise la technique SANDWICH dans la présente invention, comprenant une sonde de capture spécifique et/ou une sonde de détection spécifique, étant entendu que la sonde de capture et la sonde de détection doivent présenter une séquence nucléotidique au moins partiellement différente,

- toute sonde selon la présente invention peut s'hybrider in vivo ou in vitro sur l'ARN et/ou sur l'ADN, pour bloquer les phénomènes de réplication, notamment traduction et/ou transcription, et/ou pour dégrader ledit
5 ADN et/ou ARN,

- une amorce est une sonde comprenant au moins six monomères, et avantageusement de 10 à 30 monomères, possédant une spécificité d'hybridation dans des conditions déterminées, pour l'initiation d'une
10 polymérisation enzymatique, par exemple dans une technique d'amplification telle que la PCR (Polymerase Chain Reaction), dans un procédé d'élongation, tel que le séquençage, dans une méthode de transcription inverse ou analogue,

- deux séquences nucléotidiques ou peptidiques sont dites équivalentes ou dérivées l'une par rapport à l'autre, ou par rapport à une séquence de référence, si fonctionnellement les biopolymères correspondants peuvent jouer sensiblement le même rôle, sans être identiques,
15 vis-à-vis de l'application ou utilisation considérée, ou dans la technique dans laquelle elles interviennent ; sont notamment équivalentes deux séquences obtenues du fait de la variabilité naturelle, notamment mutation spontanée de l'espèce à partir de laquelle elles ont été identifiées,
20 ou induite, ainsi que deux séquences homologues, l'homologie étant définie ci-après,

- par "variabilité", on entend toute modification, spontanée ou induite d'une séquence, notamment par substitution, et/ou insertion, et/ou délétion de
30 nucléotides et/ou de fragments nucléotidiques, et/ou extension et/ou raccourcissement de la séquence à l'une au moins des extrémités; une variabilité non naturelle peut résulter des techniques de génie génétique utilisées, par exemple du choix des amorces de synthèse dégénérées ou
35 non, retenues pour amplifier un acide nucléique; cette variabilité peut se traduire par des modifications de

toute séquence de départ, considérée comme référence, et pouvant être exprimées par un degré d'homologie par rapport à ladite séquence de référence,

- l'homologie caractérise le degré d'identité de
5 deux fragments nucléotidiques ou peptidiques comparés ; elle se mesure par le pourcentage d'identité qui est notamment déterminé par comparaison directe de séquences nucléotidiques ou peptidiques, par rapport à des séquences nucléotidiques ou peptidiques de référence,

10 - tout fragment nucléotidique est dit équivalent ou dérivé d'un fragment de référence, s'il présente une séquence nucléotidique équivalente à la séquence du fragment de référence ; selon la définition précédente, sont notamment équivalents à un fragment nucléotidique de
15 référence :

(a) tout fragment susceptible de s'hybrider au moins partiellement avec le complément du fragment de référence,

(b) tout fragment dont l'alignement avec le
20 fragment de référence conduit à mettre en évidence des bases contigues identiques, en nombre plus important qu'avec tout autre fragment provenant d'un autre groupe taxonomique,

(c) tout fragment résultant ou pouvant résulter de
25 la variabilité naturelle de l'espèce, à partir de laquelle il est obtenu,

(d) tout fragment pouvant résulter des techniques de génie génétique appliquées au fragment de référence,

(e) tout fragment, comportant au moins huit
30 nucléotides contigus, codant pour un peptide homologue ou identique au peptide codé par le fragment de référence,

(f) tout fragment différent du fragment de référence, par insertion, délétion, substitution d'au moins un monomère, extension, ou raccourcissement à l'une
35 au moins de ses extrémités ; par exemple, tout fragment correspondant au fragment de référence, flanqué à l'une au

moins de ses extrémités par une séquence nucléotidique ne codant pas pour un polypeptide,

- par polypeptide, on entend notamment tout peptide d'au moins deux acides aminés, notamment
5 oligopeptide, protéine, extrait, séparé, ou substantiellement isolé ou synthétisé, par l'intervention de la main de l'homme, notamment ceux obtenus par synthèse chimique, ou par expression dans un organisme recombinant,

- par polypeptide codé de manière partielle par un
10 fragment nucléotidique, on entend un polypeptide présentant au moins trois acides aminés codés par au moins neuf monomères contigus compris dans ledit fragment nucléotidique,

- un acide aminé est dit analogue à un autre
15 acide aminé, lorsque leurs caractéristiques physico-chimiques respectives, telles que polarité, hydrophobicité, et/ou basicité, et/ou acidité, et/ou neutralité, sont sensiblement les mêmes ; ainsi, une leucine est analogue à une isoleucine.

- tout polypeptide est dit équivalent ou dérivé
20 d'un polypeptide de référence, si les polypeptides comparés ont sensiblement les mêmes propriétés, et notamment les mêmes propriétés antigéniques, immunologiques, enzymologiques et/ou de reconnaissance
25 moléculaire ; est notamment équivalent à un polypeptide de référence :

(a) tout polypeptide possédant une séquence dont au moins un acide aminé a été substitué par un acide aminé analogue,

30 (b) tout polypeptide ayant une séquence peptidique équivalente, obtenue par variation naturelle ou induite dudit polypeptide de référence, et/ou du fragment nucléotidique codant pour ledit polypeptide,

(c) un mimotope dudit polypeptide de référence,

(d) tout polypeptide dans la séquence duquel un ou plusieurs acides aminés de la série L sont remplacés par un acide aminé de la série D, et vice versa,

(e) tout polypeptide dans la séquence duquel on a introduit une modification des chaînes latérales des acides aminés, telle que par exemple une acétylation des fonctions aminées, une carboxylation des fonctions thiol, une estérification des fonctions carboxyliques,

(f) tout polypeptide dans la séquence duquel une ou des liaisons peptidiques ont été modifiées, comme par exemple les liaisons carba, rétro, inverso, rétro-inverso, réduites, et méthylène-oxy,

(g) tout polypeptide dont au moins un antigène est reconnu par anticorps dirigé contre un polypeptide de référence,

- le pourcentage d'identité caractérisant l'homologie de deux fragments peptidiques comparés est selon la présente invention d'au moins 50% et de préférence au moins 70 %.

Etant donné qu'un virus possédant une activité enzymatique transcriptase inverse peut être génétiquement caractérisé aussi bien sous forme d'ARN que d'ADN, il sera fait mention aussi bien de l'ADN que de l'ARN viral pour caractériser les séquences relatives à un virus possédant une telle activité transcriptase inverse, dit MSRV-1 selon la présente description.

Les expressions d'ordre utilisées dans la présente description et les revendications, telles que "première séquence nucléotidique" ne sont pas retenues pour exprimer un ordre particulier, mais pour définir plus clairement l'invention.

Par détection d'une substance ou agent, on entend ci-après aussi bien une identification, qu'une quantification, ou une séparation ou isolement de ladite substance ou dudit agent.

L'invention sera mieux comprise à la lecture de la description détaillée qui va suivre faite en référence aux figures annexées dans lesquelles :

La Figure 1 représente la structure générale de l'ADN proviral et l'ARN génomique de MSRV-1.

La Figure 2 représente la séquence nucléotidique du clone dénommé CL6-5' (SEQ ID NO: 112) et trois trames de lecture potentielles en acides aminés figurant sous la séquence nucléotidique.

La Figure 3 représente la séquence nucléotidique du clone dénommé CL6-3' (SEQ ID NO: 114) et trois trames de lecture potentielles en acides aminés figurant sous la séquence nucléotidique.

La Figure 4 représente la séquence nucléotidique du clone dénommé C15 (SEQ ID NO: 117) et trois trames de lecture potentielles en acides aminés figurant sous la séquence nucléotidique.

La Figure 5 représente la séquence nucléotidique du clone dénommé 5M6 (SEQ ID NO: 120) et trois trames de lecture potentielles en acides aminés figurant sous la séquence nucléotidique.

La Figure 6 représente la séquence nucléotidique du clone dénommé CL2 (SEQ ID NO: 130) et trois trames de lecture potentielles en acides aminés figurant sous la séquence nucléotidique.

La Figure 7 représente trois trames de lecture potentielles en acides aminés exprimées par pET28C-clone 2 et figurant sous la séquence nucléotidique.

La Figure 8 représente trois trames de lecture potentielles en acides aminés exprimées par pET21C-clone 2 et figurant sous la séquence nucléotidique.

La Figure 9 représente la séquence nucléotidique du clone dénommé LB13 (SEQ ID NO: 141) et trois trames de lecture potentielles en acides aminés figurant sous la séquence nucléotidique.

La Figure 10 représente la séquence nucléotidique du clone dénommé LA15 (SEQ ID NO: 142) et trois trames de lecture potentielles en acides aminés figurant sous la séquence nucléotidique.

5 La Figure 11 représente la séquence nucléotidique du clone dénommé LB16 (SEQ ID NO: 124) et trois trames de lecture potentielles en acides aminés figurant sous la séquence nucléotidique.

10 La Figure 12 représente l'activité promotrice exprimée en cpm/4min des séquences U3R sous clonées à partir de LTRs d'origines différentes dans le plasmide PCAT3. PCAT3 signifie plasmide seul, PCAT-PH74 signifie plasmide plus clone U3Rendogène exprimé dans le placenta, PCAT-cl6 signifie plasmide plus clone U3R amplifié dans
15 l'ARN d'un plasma SEP, PCAT-5M6 signifie plasmide plus région U3R amplifiée dans l'ADN cellulaire, "no plasmid" signifie absence de plasmide dans le test.

20 La Figure 13 représente les séquences MSRV1 env et LTR3'. Les flèches horizontales indiquent le début des régions env, U3 et R. Dans la région env : le peptide signal et la région immunosuppressive potentielle sont soulignés, les sites de glycosilation potentiels sont encadrés et les sites de clivage potentiels sont indiqués par des flèches verticales. Dans la région U3R : l'élément
25 de régulation CAAT et la TATA Box sont soulignés, le site "cap" et le signal de polyadénylation sont aussi indiqués.

30 La Figure 14 représente une région LTR5' (RU5) suivie d'un site PBS (primer binding site) complémentaire du tARN Trp et d'un gène gag codant pour une protéine d'environ 487 acides aminés. Les acides aminés conservés dans la nucléocapside sont soulignés deux fois. Les acides aminés définissant la région de plus forte homologie dans la capsid sont en gras et soulignés une fois. Les / dans la séquence en acides aminés indiquent des variations
35 observées selon les clones et dans la séquence nucléotidique ils indiquent des sauts de trame dans

certaines clones. Les régions encadrées correspondent à des épitopes identifiés par analyse peptidique de la région C-terminale.

La Figure 15 représente la région intégrase de
5 MSRV1, la séquence nucléotidique et la séquence en acides aminés déduite de la région intégrase correspondant au clone 87-23. Dans la Figure 15 // signifie un saut de trame qui a été supprimé pour restituer l'ORF potentiel. Les lettres en caractères gras soulignées représentent les
10 acides aminés conservés des intégrases rétrovirales.

La Figure 16 décrit les séquences nucléotidique et peptidique du clone B13 (identique au clone FBd13 décrit dans des demandes antérieures) avec indication des ORFs et des codons stop représentés par un point. La région
15 soulignée en gras représente le domaine immunosuppresseur potentiel. Le domaine souligné en simple représente le début du LTR3'.

EXEMPLE 1: OBTENTION D'UNE REGION CL6-5' CODANT POUR
20 L'EXTREMITÉ N-TERMINALE DE L'INTEGRASE ET D'UNE REGION CL6-3' CONTENANT LA SEQUENCE 3' TERMINALE DU GENOME MSRV-1

Une 3'RACE a été effectuée sur de l'ARN total extrait de plasma d'un patient atteint de SEP. Un plasma
25 témoin sain, traité sous les mêmes conditions, a été utilisé comme contrôle négatif. La synthèse de cDNA a été réalisée avec une amorce oligo dT identifiée par SEQ ID NO: 68 (5' GAC TCG CTG CAG ATC GAT TTT TTT TTT TTT TTT T 3') et la transcriptase inverse "ExpandTM RT" de
30 Boehringer selon les conditions préconisées par la société. Une PCR a été effectuée avec l'enzyme Klentaq (Clontech) sous les conditions suivantes : 94°C 5 min puis 93°C 1 min, 58°C 1 min, 68°C 3 min pendant 40 cycles et 68°C pendant 8 min, avec un volume réactionnel final de
35 50 µl.

Amorces utilisées pour la PCR:

- amorce 5', identifiée par SEQ ID NO: 69
5' GCC ATC AAG CCA CCC AAG AAC TCT TAA CTT 3' ;
- amorce 3', identifiée par SEQ ID NO: 68

Une deuxième PCR dite "semi-nichée" a été réalisée avec une amorce 5' située à l'intérieur de la région déjà amplifiée. Cette deuxième PCR a été effectuée sous les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées lors de la première PCR, en utilisant 10 µl du produit d'amplification issu de la première PCR.

10 Amorces utilisées pour la PCR semi-nichée:

- amorce 5', identifiée par SEQ ID NO: 70
5' CCA ATA GCC AGA CCA TTA TAT ACA CTA ATT 3' ;
- amorce 3', identifiée par SEQ ID NO: 68

Les amorces SEQ ID NO: 69 et SEQ ID NO: 70 sont
15 spécifiques de la région pol de MSRV-1.

Un produit d'amplification de 1,9Kb a été obtenu pour le plasma de patient SEP. Le fragment correspondant n'a pas été observé pour le plasma témoin sain. Ce produit d'amplification a été cloné de la façon suivante :

20 l'ADN amplifié a été inséré dans un plasmide à l'aide du kit TA Cloning®. Les 2 µl de solution d'ADN ont été mélangés avec 5 µl d'eau distillée stérile, 1µl d'un tampon de ligation 10 fois concentré "10X LIGATION BUFFER", 2 µl de "PCRTM VECTOR" (25 ng/ml) et 1 µl de "T4
25 DNA LIGASE". Ce mélange a été incubé une nuit à 12°C. Les étapes suivantes ont été réalisées conformément aux instructions du kit TA Cloning® (Invitrogen). A la fin de la procédure, les colonies blanches de bactéries recombinantes (white) ont été repiquées pour être
30 cultivées et permettre l'extraction des plasmides incorporés selon la procédure dite de "miniprep". La préparation de plasmide de chaque colonie recombinante a été coupée par une enzyme de restriction appropriée et analysée sur gel d'agarose. Les plasmides possédant un
35 insert détecté sous lumière UV après marquage du gel au bromure d'éthidium, ont été sélectionnés pour le

séquençage de l'insert, après hybridation avec une amorce complémentaire du promoteur Sp6 présent sur le plasmide de clonage du TA cloning kit®. La réaction préalable au séquençage a ensuite été effectuée selon la méthode
5 préconisée pour l'utilisation du kit de séquençage "PRISM™ Ready Reaction AmpliTaq® FS, DyeDeoxy™ Terminator" (Applied Biosystems, ref. 402119) et le séquençage automatique a été réalisé sur les appareils 373 A et 377 Applied Biosystems, selon les instructions du
10 fabricant.

Le clone obtenu, contient une région CL6-5'codant pour l'extrémité N terminale de l'intégrase et une région CL6-3', correspondant à la région 3' terminale de MSRV-1 et permettant de définir la fin de l'enveloppe (234 pb) et
15 les régions U3, R (401 pb) du rétrovirus MSRV1.

La région correspondant à l'extrémité N terminale de l'intégrase est représentée par sa séquence nucléotidique (SEQ ID NO: 112) dans la figure 27. Les trois trames de lecture potentielles sont présentées par
20 leur séquence aminéoacide sous la séquence nucléotidique, et la séquence aminéoacide de l'extrémité N-terminale de l'intégrase est identifiée par SEQID NO: 113.

La région Cl6-3' est représentée par sa séquence nucléotidique (SEQ ID NO: 114) dans la figure 3. Les trois
25 trames de lecture potentielles sont présentées par leur séquence aminéoacide sous la séquence nucléotidique. Une séquence aminéoacide correspondant à l'extrémité C-terminale de la protéine env de MSRV-1 est identifiée par SEQ ID NO: 115.

30 Afin d'évaluer l'activité promotrice du LTR obtenu à partir de clone 6 (cl6) un test d'activité promotrice utilisant l'enzyme CAT (chloramphénicol acetyl transferase) a été effectué avec la région U3R correspondante. En parallèle un clone contenant la même
35 région U3R d'ARN rétroviral endogène exprimé dans le placenta normal (PH74) et un clone (5M6) provenant d'ADN

ont été testés. Le résultat présenté dans la figure 12 montre une très forte activité promotrice du LTR issu de plasma SEP (cl6) et une activité significativement beaucoup plus faible avec les séquences d'origine endogène non SEP.

EXEMPLE 2: OBTENTION DU CLONE C15 CONTENANT LA REGION CODANT POUR UNE PARTIE DE L'ENVELOPPE DU RETROVIRUS MSRV-1

Une RT-PCR a été effectuée sur de l'ARN total extrait de virions concentrés par ultracentrifugation à partir d'un surnageant de culture de synoviocytes provenant d'un patient PR. La synthèse de cDNA a été réalisée avec une amorce oligo dT et la transcriptase inverse "ExpandTM RT" de Boehringer selon les conditions préconisées par la société. Une PCR a été effectuée avec l'ExpandTM Long Template PCR System (Boehringer) sous les conditions suivantes : 94°C 5 min puis 93°C 1 min, 60°C 1 min, 68°C 3 min pendant 40 cycles et 68°C pendant 8 min et avec un volume réactionnel final de 50 µl.

Amorces utilisées pour la PCR:

- amorce 5', identifiée par SEQ ID NO: 69
5' GCC ATC AAG CCA CCC AAG AAC TCT TAA CTT 3' ;
- amorce 3', identifiée par SEQ ID NO: 116
5' TGG GGT TCC ATT TGT AAG ACC ATC TGT AGC TT 3'

Une deuxième PCR dite "semi-nichée" a été réalisée avec une amorce 5' située à l'intérieur de la région déjà amplifiée. Cette deuxième PCR a été effectuée sous les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées lors de la première PCR (sauf que 30 cycles ont été réalisés au lieu de 40), en utilisant 10 µl du produit d'amplification issu de la première PCR.

Amorces utilisées pour la PCR semi-nichée:

- amorce 5', identifiée par SEQ ID NO: 70
5' CCA ATA GCC AGA CCA TTA TAT ACA CTA ATT 3' ;
- amorce 3', identifiée par SEQ ID NO: 116

Les amorces SEQ ID NO: 69 et SEQ ID NO: 70 sont spécifiques de la région pol de MSRV-1. L'amorce SEQ ID NO: 116 est spécifique de la séquence FBd13 (aussi dénommé B13) et est localisée dans la région env conservée parmi
5 les oncorétrovirus.

Un produit d'amplification de 1932 pb a été obtenu et cloné de la façon suivante :
l'ADN amplifié a été inséré dans un plasmide à l'aide du kit TA Cloning®. Les différentes étapes ont été réalisées
10 conformément aux instructions du kit TA Cloning® (Invitrogen). A la fin de la procédure, les colonies blanches de bactéries recombinantes (white) ont été repiquées pour être cultivées et permettre l'extraction des plasmides incorporés selon la procédure dite de
15 "miniprep". La préparation de plasmide de chaque colonie recombinante a été coupée par une enzyme de restriction appropriée et analysée sur gel d'agarose. Les plasmides possédant un insert détecté sous lumière UV après marquage du gel au bromure d'éthidium, ont été sélectionnés pour le
20 séquençage de l'insert, après hybridation avec une amorce complémentaire du promoteur SP6 présent sur le plasmide de clonage du TA cloning kit®. La réaction préalable au séquençage a ensuite été effectuée selon la méthode préconisée pour l'utilisation du kit de séquençage
25 "PRISM™ Ready Reaction AmpliTaq® FS, DyeDeoxy™ Terminator" (Applied Biosystems, ref. 402119) et le séquençage automatique a été réalisé sur les appareils 373 A et 377 Applied Biosystems, selon les instructions du fabricant.

30 Le clone C15 obtenu, contient une région correspondant à la région de l'enveloppe de MSRV-1, de 1481 pb.

La région env du clone C15 est représentée par sa séquence nucléotidique (SEQ ID NO: 117) dans la figure 5.
35 Les trois trames de lecture potentielles de ce clone sont présentées par leur séquence aminéoacide sous la séquence

nucléotidique. La trame de lecture correspondant à une protéine env structurale MSRV-1 est identifiée par SEQ ID NO: 118.

A partir des séquences définies provenant des clones cl6 et C15, une construction plasmidique a pu être effectuée codant pour une enveloppe complète suivie du LTR3', comme présenté dans la figure 13 avec la trame de lecture correspondante.

10 **EXEMPLE 3:** OBTENTION D'UN CLONE 5M6 CONTENANT LES SEQUENCES DE LA REGION 3' TERMINALE DE L'ENVELOPPE, SUIVIES DES SEQUENCES U3,R,U5 DE TYPE PROVIRAL MSRV-1.

Une PCR monodirectionnelle a été effectuée sur de l'ADN extrait de lymphocytes B immortalisés en culture d'un patient PR. La PCR a été effectuée avec l'Expand™ Long Template PCR System (Boehringer) sous les conditions suivantes : 94°C 3 min puis 93°C 1 min, 60°C 1 min, 68°C 3 min pendant 10 cycles , puis 93°C 1 min, 60°C 1 min avec 15 sec d'extension à chaque cycle, 68°C 3 min pendant 35 cycles et 68°C pendant 7 min et avec un volume réactionnel final de 50 µl.

L'amorce utilisée pour la PCR identifiée par SEQ ID NO: 119 est 5' TCA AAA TCG AAG AGC TTT AGA CTT GCT AAC CG 3' ;

L'amorces SEQ ID NO: 119 est spécifique de la région env du clone C15.

Un produit d'amplification de 1673 pb a été obtenu et cloné de la façon suivante :

l'ADN amplifié a été inséré dans un plasmide à l'aide du kit TA Cloning®. Les différentes étapes ont été réalisées conformément aux instructions du kit TA Cloning® (Invitrogen). A la fin de la procédure, les colonies blanches de bactéries recombinantes (white) ont été repiquées pour être cultivées et permettre l'extraction des plasmides incorporés selon la procédure dite de

"miniprep". La préparation de plasmide de chaque colonie recombinante a été coupée par une enzyme de restriction appropriée et analysée sur gel d'agarose. Les plasmides possédant un insert détecté sous lumière UV après marquage
5 du gel au bromure d'éthidium, ont été sélectionnés pour le séquençage de l'insert, après hybridation avec une amorce complémentaire du promoteur T7 présent sur le plasmide de clonage du TA cloning kit®. La réaction préalable au séquençage a ensuite été effectuée selon la méthode
10 préconisée pour l'utilisation du kit de séquençage "PRISM™ Ready Reaction AmpliTaq® FS, DyeDeoxy™ Terminator" (Applied Biosystems, ref. 402119) et le séquençage automatique a été réalisé sur les appareils 373 A et 377 Applied Biosystems, selon les instructions du
15 fabricant.

Le clone 5M6 obtenu, contient une région correspondant à la région 3' de l'enveloppe de MSRV-1, de 492 pb suivi des régions U3, R et U5 (837 pb) de MSRV1.

Le clone 5M6 est représenté par sa séquence
20 nucléotidique (SEQ ID NO: 120) dans la figure 5. Les trois trames de lecture potentielles de ce clone sont présentées par leur séquence aminéoacide sous la séquence nucléotidique. La trame de lecture correspondant à l'extrémité C-terminale de la protéine env MSRV-1 est
25 identifiée par SEQ ID NO: 121.

EXEMPLE 4: OBTENTION DU CLONE LB16 CONTENANT LA REGION CODANT L'INTEGRASE DU RETROVIRUS MSRV-1

Une RT-PCR a été effectuée sur de l'ARN total
30 traité à la DNaseI et extrait à partir d'un plexus choroïde provenant d'un patient SEP. La synthèse de cDNA a été réalisée avec une amorce oligo dT et la transcriptase inverse "Expand™ RT" de Boehringer selon les conditions préconisées par la société. Un contrôle "no RT" a été
35 effectué parallèlement sur le même matériel. Une PCR a été effectuée avec la Taq polymérase (Perkin Elmer) sous les

conditions suivantes : 95°C 5 min puis 95°C 1 min, 55°C 1 min, 72°C 2 min pendant 35 cycles et 72°C pendant 8 min et avec un volume réactionnel final de 50 µl.

Amorces utilisées pour la PCR:

- 5 - amorce 5', identifiée par SEQ ID NO: 122
5' GGC ATT GAT AGC ACC CAT CAG 3' ;
- amorce 3', identifiée par SEQ ID NO: 123
5' CAT GTC ACC AGG GTG GAA TAG 3'

10 L'amorce SEQ ID NO: 122 est spécifique de la région pol de MSRV-1 et plus précisément similaire à la région intégrase décrite précédemment. L'amorce SEQ ID NO 123 a été définie sur des séquences des clones obtenus lors d'essais préalables.

15 Un produit d'amplification d'environ 760 pb a été obtenu uniquement dans l'essai avec RT et a été cloné de la façon suivante :

l'ADN amplifié a été inséré dans un plasmide à l'aide du kit TA Cloning®. Les différentes étapes ont été réalisées conformément aux instructions du kit TA Cloning®
20 (Invitrogen). A la fin de la procédure, les colonies blanches de bactéries recombinantes (white) ont été repiquées pour être cultivées et permettre l'extraction des plasmides incorporés selon la procédure dite de "miniprep". La préparation de plasmide de chaque colonie
25 recombinante a été coupée par une enzyme de restriction appropriée et analysée sur gel d'agarose. Les plasmides possédant un insert détecté sous lumière UV après marquage du gel au bromure d'éthidium, ont été sélectionnés pour le séquençage de l'insert, après hybridation avec une amorce
30 complémentaire du promoteur T7 présent sur le plasmide de clonage du TA cloning kit®. La réaction préalable au séquençage a ensuite été effectuée selon la méthode préconisée pour l'utilisation du kit de séquençage "PRISM™ Ready Reaction AmpliTaq® FS, DyeDeoxy™
35 Terminator" (Applied Biosystems, ref. 402119) et le séquençage automatique a été réalisé sur les appareils

373 A et 377 Applied Biosystems, selon les instructions du fabricant.

Le clone LB16 obtenu, contient les séquences correspondant à l'intégrase. La séquence nucléotidique de ce clone est identifiée par SEQ ID NO: 124 sur la figure 11, trois trames de lecture sont déterminées.

EXEMPLE 5: OBTENTION D'UN CLONE 2, CL2, CONTENANT EN 3' UNE PARTIE HOMOLOGUE AU GENE POL, CORRESPONDANT AU GENE PROTEASE, ET AU GENE GAG (GM3) CORRESPONDANT A LA NUCLEOCAPSIDE, ET UNE NOUVELLE REGION 5' CODANTE, CORRESPONDANT AU GENE GAG PLUS SPECIFIQUEMENT LA MATRICE ET LA CAPSIDE de MSRV-1.

Une amplification par PCR a été effectuée sur de l'ARN total extrait à partir de 100 µl de plasma d'un patient atteint de SEP. Un témoin eau, traité sous les mêmes conditions, a été utilisé comme contrôle négatif. La synthèse de cDNA a été réalisée avec 300 pmole d'une amorce aléatoire (GIBCO-BRL, France) et la transcriptase inverse "Expand RT" (BOEHRINGER MANNHEIM, France) selon les conditions préconisées par la société. Une amplification par PCR ("polymerase chain reaction") a été effectuée avec l'enzyme Taq polymerase (Perkin Elmer, France) en utilisant 10 µl de cDNA sous les conditions suivantes: 94°C 2 min, 55°C 1 min, 72°C 2 min puis 94°C 1 min, 55°C 1 min, 72°C 2 min pendant 30 cycles et 72°C pendant 7 min et avec un volume réactionnel final de 50 µl.

Amorces utilisées pour l'amplification par PCR:

- amorce 5', identifiée par SEQ ID NO: 126
5' CGG ACA TCC AAA GTG ATG GGA AAC G 3' ;
- amorce 3', identifiée par SEQ ID NO: 127
5' GGA CAG GAA AGT AAG ACT GAG AAG GC 3'

Une deuxième amplification par PCR dite "semi-nichée" a été réalisée avec une amorce 5' située à

l'intérieur de la région déjà amplifiée. Cette deuxième PCR a été effectuée sous les mêmes conditions expérimentales que celles utilisées lors de la première PCR, en utilisant 10 μ l du produit d'amplification issu de la première PCR.

Amorces utilisées pour l'amplification par PCR semi-nichée:

- amorce 5', identifiée par SEQ ID NO: 128
5' CCT AGA ACG TAT TCT GGA GAA TTG GG 3' ;
- amorce 3', identifiée par SEQ ID NO: 129
5' TGG CTC TCA ATG GTC AAA CAT ACC CG 3'

Les amorces SEQ ID NO: et SEQ ID NO: sont spécifiques de la région pol, clone G+E+A, plus spécifiquement la région E: position nucleotidique n° 423 à n° 448. Les amorces utilisées dans la région 5' ont été définies sur des séquences de clones obtenus lors d'essais préalables.

Un produit d'amplification de 1511 pb a été obtenu à partir de l'ARN extrait du plasma de patient SEP. Le fragment correspondant n'a pas été observé pour le témoin eau. Ce produit d'amplification a été cloné de la façon suivante.

L'ADN amplifié a été inséré dans un plasmide à l'aide du kit TA CloningTM. Les 2 μ l de solution d'ADN ont été mélangés avec 5 μ l d'eau distillée stérile, 1 μ l d'un tampon de ligation 10 fois concentré "10X LIGATION BUFFER", 2 μ l de "pCRTM VECTOR" (25 ng/ml) et 1 μ l de "T4 DNA LIGASE". Ce mélange a été incubé une nuit à 14°C. Les étapes suivantes ont été réalisées conformément aux instructions du kit TA Cloning® (Invitrogen). Le mélange a été étalé après transformation de la ligation dans des bactéries *E. coli* INV α F'. A la fin de la procédure, les colonies blanches de bactéries recombinantes ont été repiquées pour être cultivées et permettre l'extraction des plasmides incorporés selon la procédure dite de "minipréparation d'ADN" (17). La préparation de plasmide

de chaque colonie recombinante a été coupée par l'enzyme de restriction Eco RI et analysée sur gel d'agarose. Les plasmides possédant un insert détecté sous lumière UV après marquage du gel au bromure d'éthidium, ont été
5 sélectionnés pour le séquençage de l'insert, après hybridation avec une amorce complémentaire du promoteur T7 présent sur le plasmide de clonage du TA cloning kit®. La réaction préalable au séquençage a ensuite été effectuée selon la méthode préconisée pour l'utilisation du kit de
10 séquençage "PRISMTM Ready Reaction Amplitaq® FS, DyeDeoxyTM Terminator" (Applied Biosystems, ref. 402119) et le séquençage automatique a été réalisé sur les appareils 373 A et 377 Applied Biosystems, selon les instructions du fabricant.

15 Le clone obtenu, dénommé CL2, contient une région C-terminale similaire à la région 5' terminale des clones G+E+A de MSRV-1, qui permet de définir la région C-terminale du gène gag et une nouvelle région correspondante à la région N-terminale du gène gag MSRV-1.

20 CL2 permet de définir une région de 1511 pb présentant une phase ouverte de lecture dans la région N-terminale de 1077 pb codante pour 359 acides aminés et une phase non-ouverte de lecture, de 454 pb, correspondant à la région C-terminale du gène gag MSRV-1.

25 La séquence nucléotidique de CL2 est identifiée par SEQ ID NO: 130. Elle est représentée à la figure 6, avec les trames de lecture potentielles en aminéoacide.

Le fragment de 1077 pb de CL2 codant pour 359 acides aminés a été amplifié par PCR avec l'enzyme *Pwo*
30 (5U/ μ l) (Boehringer Mannheim, France) en utilisant 1 μ l de la minipréparation de l'ADN du clone 2 sous les conditions suivantes : 95°C 1 min, 60°C 1 min, 72°C 2 min pendant 25 cycles et avec un volume réactionnel final de 50 μ l à l'aide des amorces:

35 - amorce 5' (*Bam* HI), identifié par SEQ ID NO: 132

5' TGC TGG AAT TCG GGA TCC TAG AAC GTA TTC 3' (30 mer), et
- amorce 3' (*Hind* III), identifié par SEQ ID NO: 133
5 AGT TCT GCT CCG AAG CTT AGG CAG ACT TTT 3' (30 mer)
correspondant, respectivement, à la séquence nucléotidique
5 du clone 2 en position -9 à 21 et 1066 à 1095.

Le fragment obtenu après PCR, a été linéarisé par
Bam HI et *Hind*III et sous-cloné dans les vecteurs
d'expression pET28C et pET21C (NOVAGEN) linéarisé par *Bam*
HI et *Hind* III. Le séquençage de l'ADN du fragment de 1077
10 pb du clone 2 dans les deux vecteurs d'expression a été
réalisé selon la méthode préconisée pour l'utilisation du
kit de séquençage "PRISMTM Ready Reaction Amplitaq® FS,
DyeDeoxyTM Terminator" (Applied Biosystems, ref. 402119)
et le séquençage automatique a été réalisé sur les
15 appareils 373 A et 377 Applied Biosystems, selon les
instructions du fabricant.

L'expression de la séquence nucléotidique du
fragment de 1077 pb du clone 2 par les vecteurs
d'expression pET28C et pET21C sont identifiées par
20 respectivement SEQ ID NO: 135 et SEQ ID NO: 137.

EXEMPLE 6: EXPRESSION DU CLONE 2 CHEZ *ESCHERICHIA COLI*

Les constructions pET28c-clone 2 (1077 pb) et
25 pET21C-clone 2 (1077 pb) synthétisent, dans la souche
bactérienne BL21 (DE3), une protéine en fusion N- et C-
terminale pour le vecteur pET28C et C-Terminale pour le
vecteur pET21C avec 6 Histidines, de masse moléculaire
apparente d'environ 45 kDa, mise en évidence par
30 électrophorèse sur gel de polyacrylamide SDS-PAGE (SDS =
Dodecyl Sulfate de Sodium) (Laemmli, 1970 (1)). La
réactivité de la protéine a été mise en évidence vis à vis
d'un anticorps monoclonal anti-Histidine (DIANOVA) par la
technique de Western blot (Towbin et al., 1979 (2)).

35 Les protéines recombinantes pET28c-clone 2
(1077 pb) et pET21C-clone 2 (1077 pb) ont été visualisées

en SDS-PAGE dans la fraction insoluble après digestion enzymatique des extraits bactériens avec 50 μ l de lysozyme (10 mg/ml) et lyse par ultrasons.

Les propriétés antigéniques des antigènes recombinants pET28C-clone 2 (1077 pb) et pET21C-clone 2 (1077 pb) ont été testées par Western Blot () après solubilisation du culot bactérien avec 2% SDS et 50 mM β -mercaptoéthanol. Après incubation avec les sérums de patients atteints de sclérose en plaques, les sérums des témoins neurologiques et les sérums de témoins de centre de transfusion sanguine (CTS), les immunocomplexes ont été détectés à l'aide d'un sérum de chèvre anti-IgG et anti IgM humaines, couplé à la phosphatase alcaline.

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-après.

TABLEAU

Réactivite de sérums atteints de sclérose en plaques et témoins avec la protéine recombinante MSRV-1 gag clone 2 (1077 pb) = pET21C-clone 2 (1077 pb) et pET28C-clone 2 (1077 pb)^a

MALADIE	NOMBRE D'INDIVIDUS TESTÉS	NOMBRE D'INDIVIDUS POSITIFS
SEP	15	6
		2(+++), 2(++), 2(+)
TEMOINS		
NEUROLOGIQUES	2	1(+++)
TEMOINS		
SAINS (CTS)	22	1(+/-)

(a) Les bandelettes contenant 1,5 μ g d'antigène recombinant pET-gag clone 2 (1077 pb) présentent une réactivité contre de sérums dilués au 1/100. L'interprétation de Western Blot est basée sur la présence ou absence d'une bande pET-gag clone 2 (1077 pb)

spécifique sur les bandelettes. Des contrôles positifs et négatifs sont inclus dans chaque expérience.

Ces résultats montrent que, dans les conditions techniques utilisées, environ 40% des sérums humains atteints de sclérose en plaques testés réagissent avec les protéines recombinantes pET28C-clone 2 (1077 pb) et pET21C-clone 2 (1077 pb). Une réactivité a été observée sur un témoin neurologique et il est intéressant de noter que les ARN extraits à partir de ce sérum, après l'étape de transcriptase inverse, sont aussi amplifiés par PCR dans la région pol. Ceci suggère que des personnes n'ayant pas déclaré une SEP peuvent également héberger et exprimer ce virus. Par contre, un témoin (donneur CTS) apparemment sain, possède des anticorps anti-gag (clone 2, 1077 pb). Ce qui est compatible avec une immunité acquise contre MSRV-1 en dehors d'une maladie autoimmune associée déclarée.

EXEMPLE 7: OBTENTION D'UN CLONE LB13 CONTENANT EN 3' UNE PARTIE HOMOLOGUE AU CLONE 2 CORRESPONDANT AU GENE GAG ET EN 5' UNE PARTIE HOMOLOGUE AU CLONE 5M6 CORRESPONDANT À LA RÉGION LTR U5.

Une RT-PCR ("reverse-transcriptase-polymerase chain reaction") a été effectuée à partir de l'ARN total extrait de virions, provenant de surnageants de cellules lymphocytaires B des patients atteints de sclérose en plaques, concentrés par ultracentrifugations. La synthèse de cDNA a été réalisée avec une amorce spécifique SEQ N° XXX et la transcriptase inverse "ExpandTM RT" de BOEHRINGER MANNHEIM selon les conditions préconisées par la société.

Amorce utilisée pour la synthèse du cDNA, identifiée par SEQ ID NO: 138:

5' CTT GGA GGG TGC ATA ACC AGG GAA T 3'

Une amplification par PCR a été réalisée avec la Tag polymérase (Perkin Elmer, France) sous les conditions suivantes: 94°C 1 min, 55°C 1 min, 72°C 2 min pendant 35 cycles et 72°C pendant 7 min et avec un volume réactionnel
5 final de 100 µl.

Amorces utilisées pour l'amplification par PCR:

- amorce 5', identifiée par SEQ ID NO: 139

5' TGT CCG CTG TGC TCC TGA TC 3'

- amorce 3', identifiée par SEQ ID NO: 138

10 5' CTT GGA GGG TGC ATA ACC AGG GAA T 3'

Une deuxième amplification par PCR dite " semi-nichée " a été réalisée avec une amorce 3' située à l'intérieur de la région déjà amplifiée. Cette deuxième amplification a été effectuée sous les mêmes conditions
15 expérimentales que celles utilisées lors de la première amplification, en utilisant 10 µl du produit d'amplification issu de la première PCR.

Amorces utilisées pour l'amplification par PCR " semi-nichée ":

20 - amorce 5', identifiée par SEQ ID NO: 139

5' TGT CCG CTG TGC TCC TGA TC 3'

- amorce 3', identifiée par SEQ ID NO: 140

5' CTA TGT CCT TTT GGA CTG TTT GGG T 3'

Les amorces SEQ ID NO: 138 et SEQ ID NO: 140 sont
25 spécifiques de la région gag, clone 2 position nucléotidique n° 373-397 et n° 433-456. Les amorces utilisées dans la région 5' ont été définies sur des séquences des clones obtenus lors d'essais préalables.

Un produit d'amplification de 764 pb a été obtenu
30 et cloné de la façon suivante:

L'ADN amplifié a été inséré dans un plasmide à l'aide du kit TA CloningTM. Les 2 µl de solution d'ADN ont été mélangés avec 5 µl d'eau distillée stérile, 1 µl d'un tampon de ligation 10 fois concentré "10X LIGATION
35 BUFFER", 2 µl de "pCRTM VECTOR" (25 ng/ml) et 1 µl de "T4 DNA LIGASE". Ce mélange a été incubé une nuit à 14°C. Les

étapes suivantes ont été réalisées conformément aux instructions du kit TA Cloning® (Invitrogen). Le mélange a été étalé après transformation de la ligation dans des bactéries *E. coli* INVαF'. A la fin de la procédure, les colonies blanches de bactéries recombinantes ont été repiquées pour être cultivées et permettre l'extraction des plasmides incorporés selon la procédure dite de "minipréparation d'ADN" (17). La préparation de plasmide de chaque colonie recombinante a été coupée par l'enzyme de restriction *Eco* RI et analysée sur gel d'agarose. Les plasmides possédant un insert détecté sous lumière UV après marquage du gel au bromure d'éthidium, ont été sélectionnés pour le séquençage de l'insert, après hybridation avec une amorce complémentaire du promoteur T7 présent sur le plasmide de clonage du TA cloning kit®. La réaction préalable au séquençage a ensuite été effectuée selon la méthode préconisée pour l'utilisation du kit de séquençage "PRISMTM Ready Reaction Amplitaq® FS, DyeDeoxyTM Terminator" (Applied Biosystems, ref. 402119) et le séquençage automatique a été réalisé sur les appareils 373 A et 377 Applied Biosystems, selon les instructions du fabricant.

Le clone LB13 obtenu contient une région N-terminale de gène gag MSRV-1 homologue au clone 2 et un LTR correspondant à une partie de la région U5. Entre la région U5 et gag un site de fixation pour les ARN de transfert, le PBS "primer binding site" a été identifié.

La séquence nucléotidique du fragment de 764 pb du clone LB13 dans le plasmide "pCRTM vector" est représentée dans l'identificateur SEQ ID NO: 141.

Le site de fixation pour les ARN de transfert, présentant une séquence du type PBS tryptophane, a été identifié en position nucléotidique n°342-359 du clone LB13.

Comme ce même PBS a été retrouvé dans les copies endogènes homologues à MSRV1, la famille endogène ainsi

définie est appelée dorénavant HERV W, selon la nomenclature proposée pour les familles de rétrovirus endogènes (W=Tryptophane).

Une ORF courte d'environ 65 acides aminés a été
5 retrouvée dans la région U5 du LTR 5' du clone LB13.

Séquence de l'ORF :

PMASNRAITLTAWSKIPFLGIRETKNPRSENTRLATMLEAAHHHFGSSPPLSWELWEQ
GPQVTIW.

10 La séquence nucléotidique correspondante débutant par un codon ATG est susceptible d'être exprimée dans un ADN sous génomique à partir d'un LTR proviral (U3RU5).

Un autre clone, dénommé LA15 a été obtenu sur
15 l'ARN total extrait de virions concentrés par ultracentrifugation à partir d'un surnageant de culture de synoviocytes provenant d'un patient atteint de polyarthrite rhumatoïde. La stratégie d'amplification et clonage du clone LA15 est exactement la même qui a été
20 utilisée pour le clone LB13.

La séquence nucléotidique du clone LA15 qui est représentée dans l'identificateur SEQ ID NO: 142, est très similaire au clone LB13. Ceci suggère que le rétrovirus MSVR-1 détecté dans la sclérose en plaque présente des
25 séquences similaires à celles rencontrées dans la polyarthrite rhumatoïde.

EXEMPLE 8: RECONSTRUCTION D'UNE REGION RU5-GAG A PARTIR DES CLONES LB15, LB13, CL2 ET CL17

30

Les clones CL2 et LB13 ont déjà été décrits dans les exemples précédents. Le clone LB15 a été obtenu en utilisant la séquence R du LTR du clone cl6 pour définir une amorce en 5' et les amorces anti-sens utilisées sont
35 les mêmes que pour le clone LB13. Le clone CL17 a été

obtenu par nested RT-PCR en utilisant les amorces suivantes :

- 5' -TCATGCAACTGCACTCTTCTGGTCCG-3' (sens)
5' -TCTTGCACTAACCTCCACTGTCCGTTGG-3' (anti-sens)
5' -ATCCCCCAGTAACAATTTGGTGACCACG-3' (sens)
5' -TCGGGTCTAAGAGGGTACTTCCTTTGGTAGG-3' (anti-sens)

Le clone LB15 a été obtenu à partir de virions obtenus par culture de cellules de SEP. Le clone LB17 a été obtenu à partir de culture de plasma de patient SEP.

Ces clones chevauchants ont permis de reconstruire une séquence RU5-gag avec une ORF potentielle dans le gène gag, telles que présentées à la figure 14.

EXEMPLE 9: OBTENTION D'UN CLONE 87-23

La région correspondant à l'intégrase a été amplifiée et clonée à partir de plasma de SEP en utilisant une semi-nested RT PCR avec les amorces suivantes situées dans les régions pol et env de MSRV1.

Dans la région pol :

- 5' -TTACGCAGGTCTCAGGGATGAGCTT-3' (sens-PCR primaire)
5' -CGGCAGTAGCAGTCTTAGTATCTGAAGCAGTTA-3' (sens-PCR secondaire)

Dans la région env,

- 5' -GGTACGGAGGGTTTCATGTAGTTTGGAG-3' (anti-sens PCR primaire et secondaire)

Le clone amplifié comporte 774 pb dans la région pol/RT, toute la région intégrase (1197 pb) et le début de la région env (480 pb). La séquence nucléotidique correspondant à la région intégrase et la traduction en

acides aminés de l'ORF potentiel sont présentés à la figure 15.

EXEMPLE 10: CONFIRMATION DE LA PRESENCE D'ARN CONTENANT
5 DES SEQUENCES ENV APPARENTEES A ERV9 DANS LES PARTICULES
RETROVIRALES ASSOCIEES AU GENOME MSRV1 :

Des séquences apparentées à ERV9 ont été trouvées en proportion minoritaire dans les préparations du virion
10 provenant de SEP par rapport aux séquences MSRV1. L'existence de phénomènes de co-encapsidation de séquences endogènes phylogéniquement proches dans des particules rétrovirales produites par une souche répliquative a été décrite. De manière surprenante une région d'ARN
15 comprenant une ORF commençant dans la partie 3' d'env et se continuant potentiellement dans le LTR3' a été retrouvée dans différents échantillons de SEP. Afin de préciser l'existence d'une ORF des essais de transcription-traduction ont été réalisés et ont permis de
20 montrer la réalité d'une ORF env contenant toute la partie transmembranaire (TM) et se terminant au début du LTR putatif. Cependant une trame additionnelle (ORFX) fait suite et se poursuit dans le LTR3'. Les deux produits d'expression ont été visualisés et leurs ORFs respectives
25 ont été sous clonées. La figure 16 représente les séquences nucléotidique et peptidique du clone B13 déjà décrit en précisant les ORFs dans la région env tronquée et dans le LTR putatif. La présence de tels ARN peut être à l'origine de recombinaisons avec la souche répliquative
30 et par conséquent générer des souches de pathogénécité modifiée.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.
5 Nature. (1970). 227: 680-685.

(2) Towbin H., Staehelin T. & Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some
10 applications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (1979). 76: 4350-4354.

REVENDICATIONS

1. Matériel nucléique, à l'état isolé ou purifié, comprenant une séquence nucléotidique choisie dans le
5 groupe qui consiste en (i) les séquences SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 141 et SEQ ID NO: 142 ; (ii) les séquences complémentaires des
10 séquences (i) ou (ii), en particulier les séquences présentant pour toute suite de 100 monomères contigus, au moins 50 %, et préférentiellement au moins 70 % d'homologie avec respectivement les séquences (i) ou (ii).

2. Matériel nucléique, à l'état isolé ou purifié,
15 codant pour un polypeptide présentant, pour toute suite contigue d'au moins 30 acides aminés, au moins 50 %, et de préférence au moins 70 % d'homologie, avec une séquence peptidique choisie dans le groupe qui consiste en
SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 118,
20 SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 135 et SEQ ID NO: 137.

3. Matériel nucléique rétroviral, dont le gène pol comprend une séquence nucléotidique identique ou équivalente à une séquence choisie dans le groupe qui
consiste en SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 124 et leurs
25 séquences complémentaires.

4. Matériel nucléique rétroviral, dont l'extrémité 5' du gène pol commence au nucléotide 1419 de
SEQ ID NO: 130.

5. Matériel nucléique rétroviral, dont le gène pol
30 code pour un polypeptide présentant, pour toute suite contigue d'au moins 30 acides aminés, au moins 50 %, et de préférence au moins 70 % d'homologie, avec la séquence peptidique SEQ ID NO: 113.

6. Matériel nucléique rétroviral, dont l'extrémité
35 3' du gène gag finit au nucléotide 1418 de SEQ ID NO: 130.

7. Matériel nucléique rétroviral, dont le gène env comprend une séquence nucléotidique identique ou équivalente à une séquence choisie dans le groupe qui consiste en SEQ ID NO: 117, et ses séquences
5 complémentaires.

8. Matériel nucléique rétroviral, dont le gène env comprend une séquence nucléotidique qui commence au nucléotide 1 de SEQ ID NO: 117 et finit au nucléotide au nucléotide 233 de SEQ ID NO: 114.

10 9. Matériel nucléique rétroviral, dont le gène env code pour un polypeptide présentant, pour toute suite contigue d'au moins 30 acides aminés, au moins 50 %, et de préférence au moins 70 % d'homologie, avec la séquence SEQ ID NO: 118.

15 10. Matériel nucléique rétroviral dont la région U3R du LTR 3' comprend une séquence nucléotidique qui se termine au nucléotide 617 de SEQ ID NO: 114.

11. Matériel nucléique rétroviral dont la région RU5 du LTR 5' comprend une séquence nucléotidique qui
20 commence au nucléotide 755 de SEQ ID NO: 120 et finit au nucléotide 337 de SEQ ID NO: 141 ou SEQ ID NO: 142.

12. Matériel nucléique rétroviral comprenant une séquence qui commence au nucléotide 755 de SEQ ID NO: 120 et qui se termine au nucléotide 617 de SEQ ID NO: 114.

25 13. Matériel nucléique rétroviral selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il est associé à au moins une maladie auto-immune telle que la sclérose en plaques ou la polyarthrite rhumatoïde.

30 14. Fragment nucléotidique comprenant une séquence nucléotidique choisie dans le groupe qui consiste en (i) les séquences SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 141 et SEQ ID NO: 142 ; (ii)
35 les séquences complémentaires des séquences (i) ; et (iii) les séquences équivalentes aux séquences (i) ou (ii), en

particulier les séquences présentant pour toute suite de 100 monomères contigus, au moins 50 %, et préférentiellement au moins 70 % d'homologie avec respectivement les séquences (i) ou (ii).

5 15. Fragment nucléotidique selon la revendication 14, consistant en une séquence nucléotidique choisie dans le groupe qui consiste en (i) les séquences
SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 117,
SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 130,
10 SEQ ID NO: 141 et SEQ ID NO: 142 ; (ii) les séquences complémentaires des séquences (i) ; et (iii) les séquences équivalentes aux séquences (i) ou (ii), en particulier les séquences présentant pour toute suite de 100 monomères
15 70 % d'homologie avec respectivement les séquences (i) ou (ii).

16. Fragment nucléotidique comprenant une séquence nucléotidique codant pour un polypeptide présentant, pour toute suite contigue d'au moins 30 acides aminés, au
20 moins 50 %, et de préférence au moins 70 % d'homologie, avec une séquence peptidique choisie dans le groupe qui consiste en SEQ ID NO: 113, SEQ ID N°115, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 135 et SEQ ID NO: 137.

17. Fragment nucléotidique selon la revendication
25 16, consistant en une séquence nucléotidique codant pour un polypeptide présentant, pour toute suite contigue d'au moins 30 acides aminés, au moins 50 %, et de préférence au moins 70 % d'homologie, avec une séquence peptidique choisie dans le groupe qui consiste en SEQ ID NO: 113,
30 SEQ ID N°115, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 135 et SEQ ID NO: 137.

18. Sonde nucléique pour la détection d'un rétrovirus associé à la sclérose en plaques et/ou la polyarthrite rhumatoïde, caractérisée en ce qu'elle est
35 susceptible de s'hybrider spécifiquement sur tout fragment

selon l'une quelconque des revendications 14 à 17, appartenant au génome dudit rétrovirus.

19. Sonde selon la revendication 18, caractérisée en ce qu'elle possède de 10 à 100 nucléotides, de
5 préférence de 10 à 30 nucléotides.

20. Amorce pour l'amplification par polymérisation d'un ARN ou d'un ADN d'un rétrovirus associé à la sclérose en plaques et/ou la polyarthrite rhumatoïde, caractérisée en ce qu'elle comprend une séquence nucléotidique
10 identique ou équivalente à au moins une partie de la séquence nucléotidique d'un fragment selon l'une quelconque des revendications 8 à 11, notamment une séquence nucléotidique présentant pour toute suite de 10 monomères contigus, au moins 50 %, de préférence au moins
15 70 % d'homologie avec au moins ladite partie dudit fragment.

21. Amorce selon la revendication 20, caractérisée en ce que sa séquence nucléotidique est choisie parmi
SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 122,
20 SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127,
SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 132, et
SEQ ID NO: 133.

22. ARN ou ADN, et notamment vecteur de répllication et/ou d'expression, comprenant un fragment
25 génomique du matériel nucléique selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 ou un fragment selon l'une quelconque des revendications 14 à 17.

23. Peptide codé par tout cadre de lecture ouvert appartenant à un fragment nucléotidique selon l'une
30 quelconque des revendications 14 à 17, notamment polypeptide, par exemple oligopeptide formant ou comprenant un déterminant antigénique reconnu par des sera de patients infectés par le virus MSRV-1, et/ou chez lesquels le virus MSRV-1 a été réactivé.

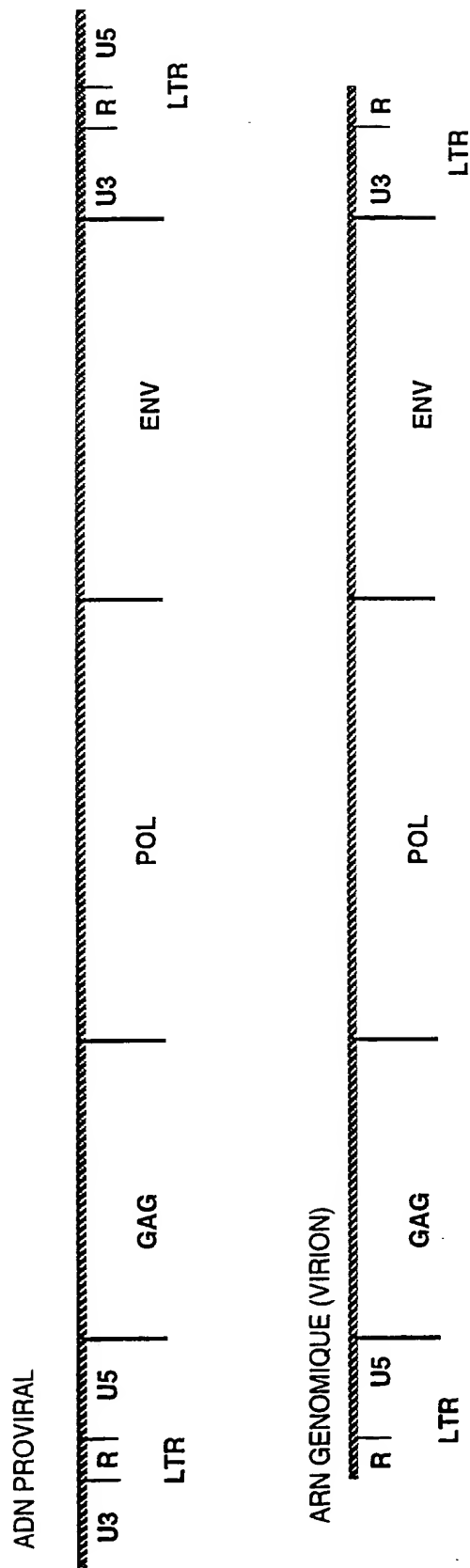
35 24. Peptide selon la revendication 23 comprenant une séquence identique, partiellement ou totalement, ou

équivalente à une séquence choisie parmi SEQ ID NO: 113, SEQ ID N°115, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 135 et SEQ ID NO: 137.

25. Composition diagnostique, prophylactique, ou
5 thérapeutique, notamment pour inhiber l'expression d'au moins un rétrovirus associé à la sclérose en plaques et/ou à la polyarthrite rhumatoïde, comprenant un fragment nucléotidique selon l'une quelconque des revendications 14 à 17.
- 10 26. Procédé pour détecter un rétrovirus associé à la sclérose en plaques et/ou à la polyarthrite rhumatoïde, dans un échantillon biologique, caractérisé en ce que l'on met en contact un ARN et/ou un ADN présumé appartenir ou provenant dudit rétrovirus, ou leur ARN et/ou ADN
15 complémentaire, avec une composition comprenant un fragment nucléotidique selon l'une quelconque des revendications 14 à 17.

1 / 32

FIG 1



2 / 32
FIG 2

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
GCTTATAGAA	GGACCCCTAG	TATGGGGTAA	TCCCCTCTGG	GAAACCAAGC	50
A Y R R	T P S	M G .	S P L G	N Q A	
L I E	G P L V	W G N	P L W	E T K P	
L .	K D P .	Y G V I	P S G	K P S	
CCAGTACTC	AGCAGGAAAA	ATAGAATAGG	AAACCTCACA	AGGACATACT	100
P V L	S R K N	R I G	N L T	R T Y F	
Q Y S	A G K	I E .	E T S Q	G H T	
P S T Q	Q E K	. N R	K P H K	D I L	
TTCCTCCCCCT	CCAGATGGCT	AGCCACTGAG	GAAGGAAAAA	TACTTTTCACC	150
P P L	Q M A	S H .	G R K N	T F T	
F L P S	R W L	A T E	E G K I	L S P	
S S P	P D G .	P L R	K E K	Y F H L	
TGCAGCTAAC	CAACAGAAAT	TACTTTAAAC	CCTTCACCAA	ACCTTCCACT	200
C S .	P T E I	T . N	P S P N	L P L	
A A N	Q Q K L	L K T	L H Q	T F H L	
Q L T	N R N	Y L K P	F T K	P S T	
TAGGCATTGA	TAGCACCCAT	CAGATGGCCA	AATTATTATT	TACTGGACCA	250
R H .	. H P S	D G Q	I I I	Y W T R	
G I D	S T H	Q M A K	L L F	T G P	
. A L I	A P I	R W P	N Y Y L	L D Q	
GGCCTTTTCA	AAACTATCAA	GAAGATAGTC	AGGGGCTGTG	AAGTGTGCCA	300
P F Q	N Y Q	E D S Q	G L .	S V P	
G L F K	T I K	K I V	R G C E	V C Q	
A F S	K L S R	R . S	G A V	K C A K	
AAGAAATAAT					310
K K .					
R N N					
E I					

3 / 32
FIG 2 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
CCCTGTATCT	TTAACCCTCT	TGTTAAGTTT	GTCTCTTCCA	GAATCAAAAC	50
P C I F	N L L	V K F	V S S R	I K T	
P V S	L T S L	L S L	S L P	E S K L	
L Y L	. P P	C . V C	L F Q	N Q N	
TGTAAACTA	CAAATTGTTT	TTCAAATGGA	GCACCAGATG	GAGTCCATGA	100
V K L	Q I V L	Q M E	H Q M	E S M T	
. N Y	K L F	F K W S	T R W	S P .	
C K T T	N C S	S N G	A P D G	V H D	
CTAAGATCCA	CCGTGGACCC	CTGGACCGGC	CTGCTAGCCC	ATGCTCCGAT	150
K I H	R G P	L D R P	A S P	C S D	
L R S T	V D P	W T G	L L A H	A P M	
. D P	P W T P	G P A	C . P	M L R C	
GTTAATGACA	TTGAAGGCAC	CCCTCCCGAG	GAAATCTCAA	CTGCACAACC	200
V N D I	E G T	P P E	E I S T	A Q P	
L M T	L K A P	L P R	K S Q	L H N P	
. . H	. R H	P S R G	N L N	C T T	
CCTACTATGC	CCCAATTICAG	CGGGAAGCAG	TTAGAGCGGT	CATCAGCCAA	250
L L C	P N S A	G S S	. S G	H Q P T	
Y Y A	P I Q	R E A V	R A V	I S Q	
P T M P	Q F S	G K Q	L E R S	S A N	
CCTCCCCAAC	AGCACTTGGG	TTTTCTGTGTT	GAGAGGGGGG	ACTGAGAGAC	300
S P T	A L G	F S C .	E G G	L R D	
P P Q Q	H L G	F P V	E R G D	. E T	
L P N	S T W V	F L L	R G G	T E R Q	
AGGACTAGCT	GGATTTCCTA	GGCCAACGAA	GAATCCCTAA	GCCTAGCTGG	350
R T S W	I S .	A N E	E S L S	L A G	
G L A	G F P R	P T K	N P .	A . L G	
D . L	D F L	G Q R R	I P K	P S W	

4 / 32
FIG 3

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
GAAGGTGACT	GCATCCACCT	CTAAACATGG	GGCTTGCAAC	TTAGCTCACA	400
K V T A S T S	K H G A C N	L A H T			
R . L H P P	L N M G L A T	. L T			
E G D C I H L	. T W G L Q L	S S H			
CCCGACCAAT	CAGAGACCTC	ACTAAAATGC	TAATTAGGCA	AAAATAGGAG	450
R P I R E L	T K M L I R Q	K . E			
P D Q S E S S	L K C . L G K	N R R			
P T N Q R A H	. N A N . A	K I G G			
GTAAAGAAAT	AGCCAATCAT	CTATTGCCTG	AGAGCACAGC	GGGAGGGACA	500
V K K . P I I	Y C L R A Q R	E G Q			
. R N S Q S S	I A . E H S	G R D K			
K E I A N H	L L P E S T A	G G T			
AGGATCGGGA	TATAAACCCA	GGCATTCGAG	CCGGCAACGG	CAACCCCCCTT	550
G S G Y K P R	H S S R Q R	Q P P L			
D R D I N P	G I R A G N G	N P L			
R I G I . T Q	A F E P A T A	T P F			
TGGGTCCCCCT	CCCTTTGTAT	GGGCGCTCTG	TTTTCACTCT	ATTTCACTCT	600
G P L P L Y	G R S V F T L	F H S			
W V P S L C M	G A L F S L Y	F T L			
G S P P F V W	A L C F H S	I S L Y			
ATTAAATCTT	GCAACTGAAA	AAAAAAAAAA	AAAAA		635
I K S C N . K	K K K K K				
L N L A T E K	K K K K K				
. I L Q L K	K K K K K				

5 / 32
FIG 4

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
ATGGCCCTCC CTTATCATAC TTTTCTCTTT ACIGTTCTCT TACCCCTTT					50
M A L P	Y H T	F L F	T V L L	P P F	
W P S	L I I L	F S L	L F S	Y P L S	
G P P	L S Y	F S L Y	C S L	T P F	
CGCTCTCACT GCACCCCTC CATGCTGCTG TACAACCACT AGCTCCCTTT					100
A L T	A P P P	C C C	T T S	S S P Y	
L S L	H P L	H A A V	Q P V	A P L	
R S H C	T P S	M L L	Y N Q .	L P L	
ACCAAGAGTT TCTATGAAGA ACGCGCTTC CTGGAAATAT TGATGCCCA					150
Q E F	L . R	T R L P	G N I	D A P	
T K S F	Y E E	R G F	L E I L	M P H	
P R V	S M K N	A A S	W K Y	. C P I	
TCATATAGGA GTTATCTAA GGGAACTCC ACCTTCACTG CCCACACCCA					200
S Y R S	L S K	G N S	T F T A	H T H	
H I G	V Y L R	E T P	P S L	P T P I	
I . E	F I .	G K L H	L H C	P H P	
TATGCCCCGC AACTGCTATA ACTCTGCCAC TCTTTGCATG CATGCAAATA					250
M P R	N C Y N	S A T	L C M	H A N T	
C P A	T A I	T L P L	F A C	M Q I	
Y A P Q	L L .	L C H	S L H A	C K Y	
CTCATTATTG GACAGGGAAA ATGATTAATC CTAGTTGTCC TGGAGGACTT					300
H Y W	T G K	M I N P	S C P	G G L	
L I I G	Q G K	. L I	L V V L	E D L	
S L L	D R E N	D . S	. L S	W R T W	
GGAGCCACTG TCTGTTGCAC TTACTTCACC CATAACAGTA TGTCTGATGG					350
G A T V	C W T	Y F T	H T S M	S D G	
E P L	S V G L	T S P	I P V	C L M G	
S H C	L L D	L L H P	Y Q Y	V . W	

6 / 32
FIG 4 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
ACCTCACCTG	TGTAAAATTT	AGCAATACTA	TAGACACAAC	CAGCTCCCAA	750
L T C	V K F	S N T I	D T T	S S Q	
T S P V	. N L	A I L	. T Q P	A P N	
P H L	C K I .	Q Y Y	R H N	Q L P M	
TGCATCAGGT	GGGTAAACACC	TCCCACACGA	ATAGTCTGCC	TACCCCTCAGG	800
C I R W	V T P	P T R	I V C L	P S G	
A S G	G . H L	P H E	. S A	Y P Q E	
H Q V	G N T	S H T N	S L P	T L R	
AATATTTTTT	GTCTGTGGTA	CCTCAGCCTA	TCATTGTTTG	AATGGCTCTT	850
I F F	V C G T	S A Y	H C L	N G S S	
Y F L	S V V	P Q P I	I V .	M A L	
N I F C	L W Y	L S L	S L F E	W L F	
CAGAATCTAT	GTGCTTCCTC	TCATTCTTAG	TGCCCCCTAT	GACCATCTAC	900
E S M	C F L	S F L V	P P M	T I Y	
Q N L C	A S S	H S .	C P L .	P S T	
R I Y	V L P L	I L S	A P Y	D H L H	
ACTGAACAAG	ATTTATACAA	TCATGTGGTA	OCTAAGCCCC	ACAACAAAAG	950
T E Q D	L Y N	H V V	P K P H	N K R	
L N K	I Y T I	M S Y	L S P	T T K E	
. T R	F I Q	S C R T	. A P	Q Q K	
AGTACCCATT	CTTCCTTTTG	TTATCAGAGC	AGGAGTGCTA	GGCAGACTAG	1000
V P I	L P F V	I R A	G V L	G R L G	
Y P F	F L L	L S E Q	E C .	A D .	
S T H S	S F C	Y Q S	R S A R	Q T R	
GTACTGGCAT	TGGCAGTATC	ACAACCTCTA	CTCAGTTCTA	CTACAAACTA	1050
T G I	G S I	T T S T	Q F Y	Y K L	
V L A L	A V S	Q P L	L S S T	T N Y	
Y W H	W Q Y H	N L Y	S V L	L Q T I	

FIG 4 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
TCTCAAGAAA	TAAATGGTGA	CATGGAACAG	GTCAGTGA	CCCTGGTAC	1100
S Q E I	N G D	M E Q	V T D S	L V T	
L K K	. M V T	W N R	S L T	P W S P	
S R N	K W .	H G T G	H . L	P G H	
CTTGCAAGAT	CAACTTAACT	CCCTAGCAGC	AGTAGTCCTT	CAAAATCGAA	1150
L Q D	Q L N S	L A A	V V L	Q N R R	
C K I	N L T	P . Q Q	. S F	K I E	
L A R S	T . L	P S S	S S P S	K S K	
GAGCTTTAGA	CTTGCTAACC	GCCAAAAGAG	GGGGAACCTG	TTTATTTTTA	1200
A L D	L L T	A K R G	G T C	L F L	
E L .	T C .	P P K E	G E P V	Y F .	
S F R	L A N R	Q K R	G N L	F I F R	
GGAGAAGAAC	GCTGTTATTA	TGTTAATCAA	TCCAGAATTG	TCACTGAGAA	1250
G E E R	C Y Y	V N Q	S R I V	T E K	
E K N	A V I M	L I N	P E L	S L R K	
R R T	L L L	C . S I	Q N C	H . E	
AGTTAAAGAA	ATTCGAGATC	GAATACAATG	TAGAGCAGAG	GAGCTTCAAA	1300
V K E	I R D R	I Q C	R A E	E L Q N	
L K K	F E I	E Y N V	E Q R	S F K	
S . R N	S R S	N T M	. S R G	A S K	
ACACCGAACG	CTGGGGCCTC	CTCAGCCAAT	GGATGCCCTG	GGTTCTCCCC	1350
T E R	W G L	L S Q W	M P W	V L P	
T P N A	G A S	S A N	G C P G	F S P	
H R T	L G P P	Q P M	D A L	G S P L	
TTCTTAGGAC	CTCTAGCAGC	TCTAATATTG	TTACTCCTCT	TTGGACCTG	1400
F L G P	L A A	L I L	L L L	F G P C	
S . D	L . Q L	. Y C	Y S S	L D P V	
L R T	S S S	S N I V	T P L	W T L	

8 / 32
FIG 4 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
TATCTTTAAC	CTCCTTGTTA	AGTTTGTCTC	TTCCAGAATT	GAAGCTGTAA	1450
I F N L L V K	F V S S R I	E A V K			
S L T S L L	S L S L	P E L K L	.		
Y L . P P C .	V C L F Q N .	S C K			
 AGCTACAGAT GGTCTTACAA ATGGAACCCC A					1481
L Q M V L Q	M E P				
S Y R W S Y K	W N P				
A T D G L T N	G T P				

9 / 32

FIG 5

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
TCAAAATCGA	AGAGCTTTAG	ACTTGCTAAC	CGCCAAAAGA	GGGGGAACCT	50
S K S K	S F R	L A N	R Q K R	G N L	
Q N R	R A L D	L L T	A K R	G G T C	
K I E	E L .	T C .	P P K E	G E P	
GTTTATTTTT	AGGGGAAGAA	TGCTGTTAGT	ATGTTAATCA	ATCTGGAATC	100
F I F	R G R M	L L V C .	S I W N H		
L F L	G E E C C .	Y V N Q	S G I		
V Y F .	G K N	A V S	M L I N	L E S	
ATTACTGAGA	AAGTTAAAGA	AATTTGAGAT	CGAATATAAT	GTAGAGCAGA	150
Y . E S .	R N L R S	N I M .	S R		
I T E K	V K E I .	D R I .	C R A E		
L L R	K L K K	F E I	E Y N	V E Q R	
GGACCTTCAA	AACACTGCAC	CCTGGGGCCT	CCTCAGCCAA	TGGATGCCCT	200
G P S K	H C T	L G P	P Q P M	D A L	
D L Q	N T A P	W G L	L S Q	W M P W	
T F K	T L H	P G A S	S A N	G C P	
GGACTCTCCC	CTTCTTAGGA	CCTCTAGCAG	CTATAATATT	TTTACTCCTC	250
D S P	L L R T	S S S	Y N I	F T P L	
T L P	F L G	P L A A	I I F	L L L	
G L S P	S . D L .	Q L .	Y F	Y S S	
TTTGGACCCCT	GTATCTTCAA	CTTCCTTGTT	AAGTTTGICT	CTTCCAGAAT	300
W T L	Y L Q	L P C .	V C L	F Q N	
F G P C	I F N	F L V	K F V S	S R I	
L D P	V S S T	S L L	S L S	L P E L	
TGAAGCTGTA	AAGCTACAAA	TAGTTCTTCA	AATGGAACCC	CAGATGCAGT	350
. S C K	A T N	S S S	N G T P	D A V	
E A V	K L Q I	V L Q	M E P	Q M Q S	
K L .	S Y K .	F F K	W N P	R C S	

10 / 32

FIG 5 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
CCATGACTAA	AATCTACCGT	GGACCCCTGG	ACCGGCCTGC	TAGACTATGC	400
H D .	N L P W	T P G	P A C	. T M L	
M T K	I Y R	G P L D	R P A	R L C	
P . L K	S T V	D P W	T G L L	D Y A	
TCTGATGTTA	ATGACATTGA	AGTCACCCCT	CCCGAGGAAA	TCTCAACTGC	450
. C .	. H .	S H P S	R G N	L N C	
S D V N	D I E	V T P	P E E I	S T A	
L M L	M T L K	S P L	P R K	S Q L H	
ACAACCCCTA	CTACACTCCA	ATTGAGTAGG	AAGCAGTTAG	AGCAGTTGTC	500
T T P T	T L Q	F S R	K Q L E	Q L S	
Q P L	L H S N	S V G	S S .	S S C Q	
N P Y	Y T P	I Q .	E A V R	A V V	
AGCCAACCTC	CCCAACAGTA	CTTGGGTTTT	CCTGTTGAGA	GGGTGGACTG	550
A N L	P N S T	W V F	L L R	G W T E	
P T S	P T V	L G F S	C . E	G G L	
S Q P P	Q Q Y	L G F	P V E R	V D .	
AGAGACAGGA	CTAGCTGGAT	TTCTAGGCT	GACTAAGAAT	CCCAAGCCT	600
R Q D	. L D	F L G .	L R I	P K P	
R D R T	S W I	S . A	D . E	S X S L	
E T G	L A G F	P R L	T K N	P X A X	
ANCTGGGAAG	GTGACCGCAT	CCATCTTTAA	ACATGGGGCT	TGCAACTTAG	650
X W E G	D R I	H L .	T W G L	Q L S	
X G K	V T A S	I F K	H G A	C N L A	
L G R	. P H	P S L N	M G L	A T .	
CTCACACCCG	ACCAATCAGA	GAGCTCACTA	AAATGCTAAT	CAGGCAAAAA	700
S H P	T N Q R	A H .	N A N	Q A K T	
H T R	P I R	E L T K	M L I	R Q K	
L T P D	Q S E	S S L	K C .	S G K N	

11 / 32

FIG 5 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
CAGGAGGTAA	AGCAATAGCC	AATCATCTAT	TGCTGAGAG	CACAGCGGA	750
G G K	A I A	N H L L	P E S	T A G	
Q E V K	Q . P	I I Y	C L R A	Q R E	
R R .	S N S Q	S S I	A . E	H S G K	
AGGACAAGGA	TTGGGATATA	AACTCAGGCA	TTCAAGCCAG	CAACAGCAAC	800
R T R I	G I .	T Q A	F K P A	T A T	
G Q G	L G Y K	L R H	S S Q	Q Q Q P	
D K D	W D I	N S G I	Q A S	N S N	
CCCCTTTGGG	TCCCCGCCA	TGTATGGGA	GCTCTGTTTT	CACTCTATTT	850
P F G	S P P I	V W E	L C F	H S I S	
P L G	P L P	L Y G S	S V F	T L F	
P L W V	P S H	C M G	A L F S	L Y F	
CACTCTATTA	AATCATGCAA	CTGCACCTCT	CTGGTCCGIG	TTTTTTATGG	900
L Y .	I M Q	L H S S	G P C	F L W	
H S I K	S C N	C T L	L V R V	F Y G	
T L L	N H A T	A L F	W S V	F F M A	
CTCAAGCTGA	GCTTTTGTTC	GCCATCCACC	ACTGCTGTTT	GCCACCGTCA	950
L K L S	F C S	P S T	T A V C	H R H	
S S .	A F V R	H P P	L L F	A T V T	
Q A E	L L F	A I H H	C C L	P P S	
CAGACCCGCT	GCTGACTTCC	ATCCCTTTGG	ATCCAGCAGA	GTGTCCACTG	1000
R P A	A D F H	P F G	S S R	V S T V	
D P L	L T S	I P L D	P A E	C P L	
Q T R C	. L P	S L W	I Q Q S	V H C	
TGCTCTGAT	CCAGCGAGGT	AOCATTTGCC	ACTCCCGATC	AGGCTAAAGG	1050
L L I	Q R G	T H C H	S R S	G . R	
C S .	S S E V	P I A	T P D Q	A K G	
A P D	P A R Y	P L P	L P I	R L K A	

12 / 32
FIG 5 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
CTTGCCATTG	TTCTGTCATG	GCTAAGTGGC	TGGGTTTGTC	CTAATAGAAC	1100
L A I V	P A W	L S A	W V C P	N R T	
L P L	F L H G	. V P	G F V	L I E L	
C H C	S C M	A K C L	G L S	. . N	
TGAACACTGG	TCACTGGGTT	CCATGGTTCT	CTTCCATGAC	CCACGGCTTC	1150
E H W	S L G S	M V L	F H D	P R L L	
N T G	H W V	P W F S	S M T	H G F	
. T L V	T G F	H G S	L P .	P T A S	
TAATAGAGCT	ATAACACTCA	CCGCATGGCC	CAAGATTCCA	TTCTTTGGTA	1200
I E L	. H S	P H G P	R F H	S L V	
. . S Y	N T H	R M A	Q D S I	P W Y	
N R A	I T L T	A W P	K I P	F L G I	
TCTGTGAGGC	CAAGAACCCC	AGGTCAGAGA	ANGTGAGGCT	TGCCACCATT	1250
S V R P	R T P	G Q R X	. G L	P P F	
L . G	Q E P Q	V R E	X E A	C H H L	
C E A	K N P	R S E X	V R L	A T I	
TGGGAAGTGG	CCCACTGCCA	TTTTGGTAGC	GGCCCCACCAC	CATCTTGGGA	1300
G K W	P T A I	L V A	A H H	H L G S	
G S G	P L P	F W .	R P T T	I L G	
W E V A	H C H	F G S	G P P P	S W E	
GCTGTGGGAG	CAAGGATCCC	CCAGTAACA			1329
C G S	K D P	P V T			
A V G A	R I P	Q .			
L W E	Q G S P	S N			

13 / 32

FIG 6

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
CCTAGAACGT	ATTCTGGAGA	ATTGGGACCA	ATGTGACACT	CAGACCTAA	50
P R T Y	S G E L	G P M .	H S .	D A K	
L E R	I L E N	W D Q	C D T	Q T L R	
. N V	F W R	I G T N	V T L	R R .	
GAAAGAAACG	ATTTATATTC	TTCCTGCAGTA	CCGCCTGGCC	ACAATATCCT	100
K E T	I Y I L	L Q Y	R L A	T I S S	
K K R	F I F	F C S T	A W P	Q Y P	
E R N D	L Y S	S A V	P P G H	N I L	
CTTCAAGCGA	GAGAAACCTG	GCTTCTCTGAG	GGAGTATAA	ATTATAACAT	150
S R E	R N L	A S .	G K Y K	L . H	
L Q G R	E T W	L P E	G S I N	Y N I	
F K G	E K P G	F L R	E V .	I I T S	
CATCTTACAG	CTAGACCTCT	TCTGTAGAAA	GGAGGGCAAA	TGGAGTCAAG	200
H L T A	R P L L	. K G	G Q M	E . S	
I L Q	L D L F	C R K	E G K	W S E V	
S Y S	. T S	S V E R	R A N	G V K	
TGCCATATGT	GCAAACCTTC	TTTTCATTAA	GAGACAACTC	ACAATTATGT	250
A I C	A N F L	F I K	R Q L	T I M .	
P Y V	Q T F	F S L R	D N S	Q L C	
C H M C	K L S	F H .	E T T H	N Y V	
AAAAAGTGTG	GTTTATGCCC	TACAGGAAGC	CCTCAGAGTC	CACCTCCCTA	300
K V W	F M P	Y R K P	S E S	T S L	
K K C G	L C P	T G S	P Q S P	P P Y	
K S V	V Y A L	Q E A	L R V	H L P T	
CCCCAGGGTC	CCCTCCCCGA	CTCCTTCTTC	AACTAATAAG	GACCCCCCTT	350
P Q R P	L P D	S F L N	. . G	P P F	
P S V	P S P T	P S S	T N K	D P P L	
P A S	P P R	L L P Q	L I R	T P L	
TAACCCAAAC	GGTCCAAAAG	GAGATAGACA	AAGGGGTAAA	CAATGAACCA	400
N P N	G P K G	D R Q	R G K	Q . T K	
T Q T	V Q K	E I D K	G V N	N E P	
. P K R	S K R	R . T	K G .	T M N Q	
AAGAGTGGCA	ATATTCCCCG	ATTATGCCCC	CTCCAGGCAG	TGAGAGGAGG	450
E C Q	Y S P	I M P P	P S S	E R R	
K S A N	I P R	L C P	L Q A V	R G G	
R V P	I F P D	Y A P	S K Q	. E E E	
AGAATTGGGC	CCAGCCAGAG	TGCTGTACC	TTTTTCTCTC	TCAGACTTAA	500
R I R P	S Q S	A C T	F F S L	R L K	
E F G	P A R V	P V P	F S L	S D L K	
N S A	Q P E	C L Y L	F L S	Q T .	

14 / 32
FIG 6 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
AGCAAATTAA	AATAGACCTA	GGTAAATTCT	CAGATAACCC	TGACGGCTAT	550
A N .	N R P R .	I L R .	P .	R L Y	
Q I K	I D L	G K F S	D N P	D G Y	
S K L K .	T .	V N S	Q I T L	T A I	
ATTGATGITT	TACAAGGGIT	AGGACAATCC	TTTGATCTGA	CATGGAGAGA	600
. C F	T R V	R T I L .	S D M E R		
I D V L	Q G L	G Q S	F D L T	W R D	
L M F	Y K G .	D N P	L I .	H G E I	
TATAATGTTA	CTACTAAATC	AGACACTAAC	CCCAAATGAG	AGAAGTGCCG	650
Y N V T	T K S	D T N	P K .	E K C R	
I M L	L L N Q	T L T	P N E	R S A A	
. C Y Y .	I R H .	P	Q M R	E V P	
CTGTAAGTGC	AGCCCGAGAG	TTTGCGGATC	TTTGGTATCT	CAGTCAGGCC	700
C N C	S P R V	W R S	L V S	Q S G Q	
V T A	A R E	F G D L	W Y L	S Q A	
L .	L Q	P E S	L A I	F G I S	V R P
AACAATAGGA	TGACAACAGA	GGAAAGAACA	ACTCCACAG	GCCAGCAGGC	750
Q .	D D N R	G K N N	S H R	P A G	
N N R M	T T E	E R T	T P T G	Q Q A	
T I G .	Q Q R	K E Q	L P Q	A S R Q	
AGTTCOCAGT	GTAGACCCTC	ATTGGGACAC	AGAATCAGAA	CATGGAGATT	800
S S Q C	R P S	L G H	R I R T	W R L	
V P S	V D P H	W D T	E S E	H G D W	
F P V .	T L	I G T Q	N Q N	M E I	
GGTGCCACAA	ACATTTGCTA	ACTTGGGTGC	TAGAAGGACT	GAGGAAACT	850
V P Q	T F A N	L R A	R R T	E E N .	
C H K	H L L	T C V L	E G L	R K T	
G A T N	I C .	L A C .	K D .	G K L	
AGGAAGAACC	CTATGAATTA	CTCAATGATG	TCCACTATAA	CACAGGGAAA	900
E E A	Y E L	L N D V	H Y N	T G K	
R K K P	M N Y	S M M	S T I T	Q G K	
G R S	L .	I T Q .	C P L .	H R E R	
GGAAGAAAAT	CTTACTGCTT	TTCTGGACAG	ACTAAGGGAG	GCATTGAGGA	950
G R K S	Y C F	S G Q	T K G G	I E E	
E E N	L T A F	L D R	L R E	A L R K	
K K I	L L L	F W T D	. G R H .	G	
AGCATACCTC	CCTGTACACT	GACTCTATTG	AAGGCCAACT	AATCTTAAAG	1000
A Y L	P V T .	L Y .	R P T	N L K G	
H T S	L S P	D S I E	G Q L	I L K	
S I P P	C H L	T L L	K A N .	S . R	

15 / 32
FIG 6 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
GATAAGTTTA	TCACTCAGTC	ACCTGCAGAC	ATTAGAAAAA	ACTTCAAAAG	1050
. V Y	H S V	S C R H	. K K	L Q K	
D K F I	T Q S	A A D	I R K N	F K S	
I S L	S L S Q	L Q T	L E K	T S K V	
TCIGCCTTAG	GCCCCGAGCA	GAACCTAGAA	ACCCTATTTA	ACTTGGCATC	1100
S A L G	P E Q	N L E	T L F N	L A S	
L P .	A R S R	T . K	P Y L	T W H P	
C L R	P G A	E L R N	P I .	L G I	
CTCAGTTTTT	TATAATAGAG	ATCAGGAGGA	GCAGGCGAAA	CGGACAAAC	1150
S V F	Y N R D	Q E E	Q A K	R D K R	
Q F F	I I E	I R R S	R R N	G T N	
L S F L	. . R	S G G	A G E T	G Q T	
GGGATAAAAA	AAAAAGGGGG	GGTCCACTAC	TTTAGTCATG	GCCCTCAGGC	1200
D K K	K R G	G P L L	. S W	P S G	
G I K K	K G G	V H Y	F S H G	P Q A	
G . K	K K G G	S T T	L V M	A L R Q	
AAGCAGACTT	TGGAGGCTCT	GCAAAAGGGA	AAAGCTGGGC	AAATCAAATG	1250
K Q T L	E A L	Q K G	K A G Q	I K C	
S R L	W R L C	K R E	K L G	K S N A	
A D F	G G S	A K G K	S W A	N Q M	
OCTAATAGGG	CTGGCTTCCA	GTGGGGTCTA	CAAGGACACT	TTAAAAAAGA	1300
L I G	L A S S	A V Y	K D T	L K K I	
. . G	W L P	V R S T	R T L	. K R	
P N R A	G F Q	C G L	Q G H F	K K D	
TTATCCAAGT	AGAAATAAGC	CGCCCCCTTG	TCCATGCCCC	TTAGGTCAAG	1350
I Q V	E I S	R P L V	H A P	Y V K	
L S K .	K . A	A P L	S M P L	T S R	
Y P S	R N K P	P P C	P C P	L R Q G	
GGATCACTG	GAAGGCCCCAC	TGCCCCAGGG	GATGAAGATA	CTCTGAGTCA	1400
G I T G	R P T	A P G	D E D T	L S Q	
E S L	E G P L	P Q G	M K I	L . V R	
N H W	K A H	C P R G	. R Y	S E S	
GAAGCCATTA	ACCAGATGAT	CCAGCAGCAG	GACTGAGGGT	GCCCCGGGGG	1450
K P L	T R .	S S S R	T E G	A R G E	
S H .	P D D	P A A G	L R V	P G A	
E A I N	Q M I	Q Q Q	D . G C	P G R	
AGGGCCAGCC	CATGCCATCA	COCTCACAGA	GCCCCGGGTA	TGTTTGACCA	1500
R Q P	M P S	P S Q S	P G Y V	. P	
S A S P	C H H	P H R	A P G M	F D H	
A P A	H A I T	L T E	P R V	C L T I	

16 / 32
FIG 6 (suite)

10	20	30	40	50
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890
TTGAGAGCCA A				1511
L	R	A		
	E	P		
E	S	Q		

17 / 32

FIG 7

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
ATGGGCAGCA	GCCATCATCA	TCATCATCAC	AGCAGCGGCC	TGGTGCCGCG	50
M G S S	H H H	H H H	S S G L	V P R	
CGGCAGCCAT	ATGGCTAGCA	TGACTGGTGG	ACAGCAAATG	GGTCGGATCC	100
G S H	M A S M	T G G	Q Q M	G R I L	
TAGAACGTAT	TCTGGAGAAT	TGGGACCAAT	GTGACACTCA	GACGCTAAGA	150
E R I	L E N	W D Q C	D T Q	T L R	
AAGAAACGAT	TTATATTCTT	CTGCAGTACC	GCCTGGCCAC	AATATCCTCT	200
K K R F	I F F	C S T	A W P Q	Y P L	
TCAAGGGAGA	GAAACCTGGC	TTCCTGAGGG	AAGTATAAAT	TATAACATCA	250
Q G R	E T W L	P E G	S I N	Y N I I	
TCTTACAGCT	AGACCTCTTC	TGTAGAAAGG	AGGGCAAATG	GAGTGAAGTG	300
L Q L	D L F	C R K E	G K W	S E V	
CCATATGTGC	AAACTTTCTT	TTCATTAAGA	GACAACTCAC	AATTATGTAA	350
P Y V Q	T F F	S L R	D N S Q	L C K	
AAAGTGTGGT	TTATGCCCTA	CAGGAAGCCC	TCAGAGTCCA	CCTCCCTACC	400
K C G	L C P T	G S P	Q S P	P P Y P	
CCAGCGTCCC	CTCCCCGACT	CCTTCCTCAA	CTAATAAGGA	CCCCCCTTTA	450
S V P	S P T	P S S T	N K D	P P L	
ACCCAAACGG	TCCAAAAGGA	GATAGACAAA	GGGGTAAACA	ATGAACCAAA	500
T Q T V	Q K E	I D K	G V N N	E P K	
GAGTGOCAAT	ATTCCCCGAT	TATGCCCCCT	CCAAGCAGTG	AGAGGAGGAG	550
S A N	I P R L	C P L	Q A V	R G G E	
AATTGGGCCC	AGCCAGAGTG	CCTGTACCTT	TTTCTCTCTC	AGACTTAAAG	600
F G P	A R V	P V P F	S L S	D L K	
CAAATTAAAA	TAGACCTAGG	TAAATTCTCA	GATAACCCTG	ACGGCTATAT	650
Q I K I	D L G	K F S	D N P D	G Y I	
TGATGTTTAA	CAAGGGTTAG	GACAATCCTT	TGATCTGACA	TGGAGAGATA	700
D V L	Q G L G	Q S F	D L T	W R D I	
TAATGTTACT	ACTAAATCAG	ACACTAATCC	CAAATGAGAG	AAGTGGCGCT	750
M L L	L N Q	T L T P	N E R	S A A	
GTAATGTCAG	CCCGAGAGTT	TGGCGATCTT	TGGTATCTCA	GTCAGGOCOA	800
V T A A	R E F	G D L	W Y L S	Q A N	

18 / 32
FIG 7 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
CAATAGGATG	ACAACAGAGG	AAAGAACAAC	TCCCACAGGC	CAGCAGGCAG	850
N R M	T T E E	R T T	P T G	Q Q A V	
TTCCCAGTGT	AGACCCTCAT	TGGCAGACAG	AATCAGAACA	TGGAGATTGG	900
P S V	D P H	W D T E	S E H	G D W	
TGCCACAAAC	ATTTGCTAAC	TTGCGTGCTA	GAAGGACTGA	GGAAAAC TAG	950
C H K H	L L T	C V L	E G L R	K T R	
GAAGAAGCCT	ATGAATTACT	CAATGATGTC	CACTATAACA	CAGGGAAAGG	1000
K K P	M N Y S	M M S	T I T	Q G K E	
AAGAAAATCT	TACTGCITTTT	CTGGACAGAC	TAAGGGAGGC	ATTGAGGAAG	1050
E N L	T A F	L D R L	R E A	L R K	
CATACCTCCC	TGTCACCTGA	CTCTATTGAA	GGCCAACTAA	TCTTAAAGGA	1100
H T S L	S P D	S I E	G Q L I	L K D	
TAAGTTTATC	ACTCAGTCAG	CTGCAGACAT	TAGAAAAAAC	TTCAAAAGTC	1150
K F I	T Q S A	A D I	R K N	F K S L	
TGCGTAAGCT	TGCGGCCGCA	CTCGAGCACC	ACCACCACCA	CCACTGAGAT	1200
P K L	A A A	L E H H	H H H	H . D	
CCGGCTGCTA	ACAAAGCCCC	AAAGGAAGCT	GAGTTGGCTIN	GTGGCNA	1247
P A A N	K A R	K E A	E L A X	G	

19 / 32
FIG 8

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
ATGGCTAGCA	TGACTGGTGG	ACAGCAAATG	GGTCGGATCC	TAGAACGTAT	50
M A S M	T G G	Q Q M	G R I L	E R I	
TCTGGAGAAT	TGGGACCAAT	GTGACACTCA	GACGCTAAGA	AAGAAAACGAT	100
L E N	W D Q C	D T Q	T L R	K K R F	
TTATATTCTT	CTGCAGTACC	GCCTGGCCAC	AATATCCTCT	TCAAGGGAGA	150
I F F	C S T	A W P Q	Y P L	Q G R	
GAAACCTGGC	TTCCTGAGGG	AAGTATAAAT	TATAACATCA	TCTTACAGCT	200
E T W L	P E G	S I N	Y N I I	L Q L	
AGACCTCTTC	TGTAGAAAGG	AGGGCAAATG	GAGTGAAGTG	CCATATGTGC	250
D L F	C R K E	G K W	S E V	P Y V Q	
AAACTTTCTT	TTCATTAAGA	GACAACTCAC	AATTATGTAA	AAAGTGTGGT	300
T F F	S L R	D N S Q	L C K	K C G	
TTATGCCCTA	CAGGAAGCCC	TCAGAGTCCA	CCTCCCTACC	CCAGCGTCCC	350
L C P T	G S P	Q S P	P P Y P	S V P	
CTCCCCGACT	CCTTCTCTCA	CTAATAAGGA	CCCCCTTTA	ACCCAAACGG	400
S P T	P S S T	N K D	P P L	T Q T V	
TCCAAAAGGA	GATAGACAAA	GGGGTAAACA	ATGAACCAAA	GAGTGC CAAT	450
Q K E	I D K	G V N N	E P K	S A N	
ATTCCCCGAT	TATGCCCCCT	CCAAGCAGTG	AGAGGAGGAG	AATTCGGCCC	500
I P R L	C P L	Q A V	R G G E	F G P	
AGCCAGAGTG	CCGTACCTT	TTTCTCTCTC	AGACTTAAAG	CAAATTAAAA	550
A R V	P V P F	S L S	D L K	Q I K I	
TAGACCTAGG	TAAATTCTCA	GATAACCCTG	ACGGCTATAT	TGATGTTTTA	600
D L G	K F S	D N P D	G Y I	D V L	
CAAGGGTTAG	GACAATCCTT	TGATCTGACA	TGGAGAGATA	TAATGTTACT	650
Q G L G	Q S F	D L T	W R D I	M L L	
ACTAAATCAG	ACACTAACCC	CAAATGAGAG	AAGTGGCGCT	GTAAGTGCAG	700
L N Q	T L T P	N E R	S A A	V T A A	
CCCGAGAGTT	TGGCGATCTT	TGGTATCTCA	GTCAGGCCAA	CAATAGGATG	750
R E F	G D L	W Y L S	Q A N	N R M	
ACAACAGAGG	AAAGAACAAC	TCCCACAGGC	CAGCAGGCAG	TTCOCAGTGT	800
T T E E	R T T	P T G	Q Q A V	P S V	

20 / 32

FIG 8 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
AGACCCATCAT	TGGGACACAG	AATCAGAACA	TGGAGATTGG	TGCCACAAAC	850
D P H	W D T E	S E H	G D W	C H K H	
ATTTGCTAAC	TTGCGTGCTA	GAAGGACTGA	GGAAAACTAG	GAAGAAGCCT	900
L L T	C V L	E G L R	K T R	K K P	
ATGAATTACT	CAATGATGTC	CACTATAACA	CAGGGAAAGG	AAGAAAATCT	950
M N Y S	M M S	T I T	Q G K E	E N L	
TACTGCTTTT	CTGGACAGAC	TAAGGGAGGC	ATTGAGGAAG	CATACCTCCC	1000
T A F	L D R L	R E A	L R K	H T S L	
TGTCACCTGA	CTCTATTGAA	GGCCAACTAA	TCTTAAAGGA	TAAGTTTATC	1050
S P D	S I E	G Q L I	L K D	K F I	
ACTCAGTCAG	CTGCAGACAT	TAGAAAAAAC	TTCAAAAAGTC	TGCCTAAGCT	1100
T Q S A	A D I	R K N	F K S L	P K L	
TGCGGCGGCA	CTCGAGCACC	ACCACCACCA	CCACTGAGAT	CCGGCTGCTA	1150
A A A	L E H H	H H H	H . D	P A A N	
ACAAAGCCCC	AAAGGAAGCT	GAGTTGGCTG	GTGGCA		1186
K A R	K E A	E L A G	G		

21 / 32

FIG 9

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
TGTCGCTGT	GCTCCTGATC	CAGCACAGGC	GCCCATTGCC	TCTCCCAATT	50
C P L C S . S	S T G A H C L	S Q L			
V R C A P D P	A Q A P I A	S P N W			
S A V L L I	Q H R R	P L P L P I			
GGGCTAAAGG	CTTGCCATTG	TTCTGACACA	GCTAAGTGCC	TGGGTTCATC	100
G . R L A I V	P A Q L S A	W V H P			
A K G L P L	F L H S . V	P G F I			
G L K A C H C	S C T A K C L	G S S			
CTAATCGAGC	TGAACACTAG	TCACTGGGTT	CCACGGTTCT	CTTCCATGAC	150
N R A E H .	S L G S T V L	F H D			
L I E L N T S	H W V P R F S	S M T			
. S S . T L V	T G F H G S	L P . P			
CCATGGCTTC	TAATAGAGCT	ATAACACTCA	CTGCATGGTC	CAAGATTCCA	200
P W L L I E L .	H S L H G P	R F H			
H G F . . S Y	N T H C M V	Q D S I			
M A S N R A	I T L T A W S	K I P			
TTCTTGGA	TCCGTGAGAC	CAAGAACCCC	AGGTCAGAGA	ACACAAGGCT	250
S L E S V R P	R T P G Q R	T Q G L			
P W N P . D	Q E P Q V R E	H K A			
F L G I R E T	K N P R S E N	T R L			
TGCCACCATG	TTGGAAGCAG	CCCACCACCA	TTTIGGAAGC	AGCCCCGCCAC	300
P P C W K Q	P T T I L E A	A R H			
C H H V G S S	P P P F W K Q	P A T			
A T M L E A A	H H H F G S	S P P L			
TATCTTGGGA	GCTCTGGGAG	CAAGGACCCC	AGGTAACAAT	TTGGTGACCA	350
Y L G S S G S	K D P R . Q F	G D H			
I L G A L G A	R T P G N N	L V T T			
S W E L W E	Q G P Q V T I	W . P			
CGAAGGGACC	TGAATCCGCA	ACCATGAAGG	GATCTCCAAA	GCAATTGGAA	400
E G T . I R N	H E G I S K	A I G N			
K G P . E S A	T M K G S P K	Q L E			
R R D L N P Q	P . R D L Q S	N W K			

22 / 32

FIG 9 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
ATGTTCCCTCC	CAAGGCAAAA	ATGCCCCCTAA	GATGTATTCT	GGAGAATTGG	450
V P P	K A K	M P L R	C I L	E N W	
M F L P	R Q K	C P .	D V F W	R I G	
C S S	Q G K N	A P K	M Y S	G E L G	
GACCAATTTG	ACCOCTCAGAC	AGTAAGAAAA	AAATGACTTA	TATTCTTCTG	500
D Q F D	P Q T	V R K	K .	L I F F C	
T N L	T L R Q	. E K	N D L	Y S S A	
P I .	P S D	S K K K	M T Y	I L L	
CAGTACCGCC	CTGGCCACGA	TATCCTCTTC	AAGGGGGAGA	AACCTGGCCT	550
S T A	L A T I	S S S	R G R	N L A S	
V P P	W P R	Y P L Q	G G E	T W P	
Q Y R P	G H D	I L F	K G E K	P G L	
CCTGAGGGAA	GTATAAATTA	TAACACCATC	TTACAGCTAG	ACCTGTTTTG	600
. G K	Y K L	. H H L	T A R	P V L	
P E G S	I N Y	N T I	L Q L D	L F C	
L R E V	. I I	T P S	Y S .	T C F V	
TAGAAAAGGA	GGCAAATGGA	GIGAAGTGCC	ATATTTACAA	ACTTTCTTTT	650
. K R R	Q M E	. S A	I F T N	F L F	
R K G	G K W S	E V P	Y L Q	T F F S	
E K E	A N G	V K C H	I Y K	L S F	
CATTAAAAGA	CAACTCGCAA	TTATGTTAAC	AGTGIGATTT	GIGTTCCTAC	700
I K R	Q L A I	M L T V	. F	V F L H	
L K D	N S Q	L C .	Q	C D L C S Y	
H .	K T	T R N	Y V N	S V I C V P T	
ACGGAAGCCC	TCAGATTCTA	CTCCCCACCC	CCGGCATCTC	CCCTGAATCC	750
G S P	Q I L	L P T P	G I S	P E S	
T E A L	R F Y	S P P	P A S P	L N P	
R K P	S D S T	P H P	R H L	P . I P	
CTCCCCAACT	TATT				764
L P N L					
S P T Y					
P Q L I					

23 / 32

FIG 10

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
TGTCGCTGT	GCTCCTGATC	CAGCACAGGC	GCCCATTTGCC	TCTCCCAATT	50
C P L C	S . S	S T G	A H C L	S Q L	
V R C	A P D P	A Q A	P I A	S P N W	
S A V	L L I	Q H R R	P L P	L P I	
GGGCTAAAGG	CTTGCCATTG	TTCCTGCACA	GCTAAGTGCC	TGGGTTTCATC	100
G . R	L A I V	P A Q	L S A	W V H P	
A K G	L P L	F L H S	. V P	G F I	
G L K A	C H C	S C T	A K C L	G S S	
CTAATCGAGC	TGAACACTAG	TCACTGGGTT	CCACGGTTCT	CTTCCATGAC	150
N R A	E H .	S L G S	T V L	F H D	
L I E L	N T S	H W V	P R F S	S M T	
. S S	. T L V	T G F	H G S	L P . P	
CCATGGCTTC	TAATAGAGCT	ATAACACTCA	CTGCATGGTC	CAAGATTCCA	200
P W L L	I E L .	H S	L H G P	R F H	
H G F .	. S Y	N T H	C M V	Q D S I	
M A S	N R A	I T L T	A W S	K I P	
TTCCTTGGA	TCCGTGAGAC	CAAGAACCCC	AGGTCAGAGA	ACACAAGGCT	250
S L E	S V R P	R T P	G Q R	T Q G L	
P W N	P . D	Q E P Q	V R E	H K A	
F L G I	R E T	K N P	R S E N	T R L	
TGCCACCATG	TTGGAAGCAG	CCCACCAcca	TTTGTGAAGC	GGCCCCGCCAC	300
P P C	W K Q	P T T I	L E A	A R H	
C H H V	G S S	P P P	F W K R	P A T	
A T M	L E A A	H H H	F G S	G P P L	
TATCTTGGGA	GCTCTGGGAG	CAAGGACCCC	CAGGTAACAA	TTTGGTGACC	350
Y L G S	S G S	K D P	Q V T I	W . P	
I L G	A L G A	R T P	R . Q	F G D H	
S W E	L W E	Q G P P	G N N	L V T	
ACGAAGGGAC	CTGAATCCGC	AACCATGAAG	GGATCTCCAA	AGCAATTGGA	400
R R D	L N P Q	P . R	D L Q	S N W K	
E G T .	I R	N H E G	I S K	A I G	
T K G P	E S A	T M K	G S P K	Q L E	

24 / 32
FIG 10 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
AATGTTCTCT	CCAAGGCAAA	AATGCCCCCTA	AGATGTATTTC	TGGAGAATTG	450
C S S	Q G K	N A P K	M Y S	G E L	
N V P P	K A K	M P L	R C I L	E N W	
M F L	P R Q K	C P .	D V F	W R I G	
GGACCAATCT	GACCCCTCAGA	CAGTAAGAAA	AAAAATGACT	TATATTCTTC	500
G P I .	P S D	S K K	K N D L	Y S S	
D Q S	D P Q T	V R K	K M T	Y I L L	
T N L	T L R	Q .	E K	K . L I F F	
TGCAGTACCG	CCTGGCCACG	GATATCTCT	TCAAGGGGGA	GAAACCTGGC	550
A V P	P G H G	Y P L	Q G G	E T W P	
Q Y R	L A T	D I L F	K G E	K P G	
C S T A	W P R	I S S	S R G R	N L A	
CTCCTGAGGG	AAGTATAAAT	TATAACACCA	TCTTACAGCT	AGACCTGTTT	600
P E G	S I N	Y N T I	L Q L	D L F	
L L R E	V .	I I T P	S Y S .	T C F	
S .	G K Y K L	. H H	L T A	R P V L	
TGTAGAAAAG	GAGGCAAATG	GAGTGAAGIG	CCATATTTAC	AAACTTTCTT	650
C R K G	G K W	S E V	P Y L Q	T F F	
V E K	E A N G	V K C	H I Y	K L S F	
. K R	R Q M E .	S A	I F T	N F L	
TTCATTAAAA	GACAACTCGC	AATTATGTAA	ACAGTGTGAT	TTGTGTGCTTA	700
S L K	D N S Q	L C K	Q C D	L C P T	
H .	K T T R	N Y V N	S V I	C V L	
F I K R	Q L A	I M .	T V .	F V S Y	
CAGGAAGCCC	TCAGATCTAC	CTCCCTACCC	CGGCATCTCC	CTGACTCCTT	750
G S P	Q I Y	L P T P	A S P .	L L	
Q E A L	R S T	S L P	R H L P	D S F	
R K P	S D L P	P Y P	G I S	L T P S	
CCCCAACTAA	TAAGGACCCA	CTTCAGCCCA	AACAGTCCAA	AAGGACATAG	800
P Q L I	R T H	F S P	N S P K	G H	
P N .	. G P T	S A Q	T V Q	K D I	
P T N	K D P	L Q P K	Q S K	R T .	

25 / 32
FIG 11

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
GGCATIGATA	GCACCCATCA	GATGGCCAAA	TCATTATTTA	CTGGACCAGG	50
G I D S	T H Q	M A K	S L F T	G P G	
A L I	A P I R	W P N	H Y L	L D Q A	
H . .	H P S	D G Q I	I I Y	W T R	
CCTTTTCAAA	ACTATCAAGC	AGATAGGGCC	CGTGAAGCAT	GCCAAAGAAA	100
L F K	T I K Q	I G P	V K H	A K E I	
F S K	L S S	R . G P	. S M	P K K	
P F Q N	Y Q A	D R A	R E A C	Q R N	
TAATCCCCTG	CCTTATCGCC	ATGTTCTCTC	AGGAGAACAA	AGAACAGGCC	150
I P C	L I A	M F L Q	E N K	E Q A	
. S P A	L S P	C S F	R R T K	N R P	
N P L	P Y R H	V P S	G E Q	R T G H	
ATTACCCAGG	GGAAGACTGG	CAACTAGATT	TTACCCACAT	GGCCAAATGT	200
I T Q G	K T G N	. I L P T W	P N V		
L P R	G R L A	T R F	Y P H	G Q M S	
Y P G	E D W	Q L D F	T H M	A K C	
CAGGGATTTC	AGCATCTACT	AGTCTGGGCA	GATACTTTCA	CTGGTTGGGT	250
R D F	S I Y .	S G Q	I L S	L V G W	
G I S	A S T	S L G R	Y F H	W L G	
Q G F Q	H L L	V W A	D T F T	G W V	
GGAGTCTTCT	CCTTGTAGGA	CAGAAAAGAC	CCAAGAGGTA	ATAAAGGCAC	300
S L L	L V G	Q K R P	K R .	. R H	
G V F S	L . D	R K D	P R G N	K G T	
E S S	P C R T	E K T	Q E V	I K A L	
TAATGAAATA	ATTCCCAGAT	TTGGACTTCC	CCCAGGATTA	CAGGGTGACA	350
. . N N	S Q I	W T S	P R I T	G . Q	
N E I	I P R F	G L P	P G L	Q G D N	
M K .	F P D	L D F P	Q D Y	R V T	

26 / 32
FIG 11 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
ATGGCCCCGC	TTC AAGGCT	GCAGTAAACC	AGGGAGTATC	CCAGGTGTTA	400
W P R	F Q G C	S N P	G S I	P G V R	
G P A	F K A	A V T Q	G V S	Q V L	
M A P L	S R L	Q .	P R E Y P	R C .	
GGCATACAAT	ATCACTTACA	CTGTGCCTGG	AGGCCACAAT	CCTCCAGAAA	450
H T I	S L T	L C L E	A T I	L Q K	
G I Q Y	H L H	C A W	R P Q S	S R K	
A Y N	I T Y T	V P G	G H N	P P E K	
AGTCAAGAAA	ATGAATGAAA	CACTCAAAGA	TCTAAAAAAG	CTAACCCAAG	500
S Q E N	E . N	T Q R	S K K A	N P R	
V K K	M N E T	L K D	L K K	L T Q E	
S R K	. M K	H S K I	. K S	. P K	
AAACCCACAT	TGCATGACCT	GTTCTGTGTC	CTATAACCTT	ACTAAGAATC	550
N P H	C M T C	S V A	Y N L	T K N P	
T H I	A . P	V L L P	I T L	L R I	
K P T L	H D L	F C C	L . P Y	. E S	
CATAACTATC	CCCCAAAAG	CAGGACTTAG	CCCATACGAG	ATGCTATATG	600
. L S	P K K	Q D L A	H T R	C Y M	
H N Y P	P K S	R T .	P I R D	A I W	
I T I	P Q K A	G L S	P Y E	M L Y G	
GATGGCCTTT	CCTAACCAAT	GACCTTGTC	TTGACTGAGA	AATGGCCAAC	650
D G L S	. P M	T L C	L T E K	W P T	
M A F	P N Q .	P C A	. L R	N G Q L	
W P F	L T N	D L V L	D . E	M A N	
TTAGTTGCAG	ACATCACCTC	CTTAGCCAAA	TATCAACAAG	TTCTTAAAC	700
. L Q	T S P P	. P N	I N K	F L K H	
S C R	H H L	L S Q I	S T S	S . N	
L V A D	I T S	L A K	Y Q Q V	L K T	

27 / 32
FIG 11 (suite)

10	20	30	40	50	
1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	
ATCACAGGGA	ACCTGTCCCC	GAGAGGAGGG	AAAGGAACTA	TTCCACCCCTG	750
H R E	P V P	E R R E	R N Y	S T L	
I T G N	L S P	R G G	K G T I	P P W	
S Q G	T C P R	E E G	K E L	F H P G	
GTGACATG					758
V T					
. H					
D M					

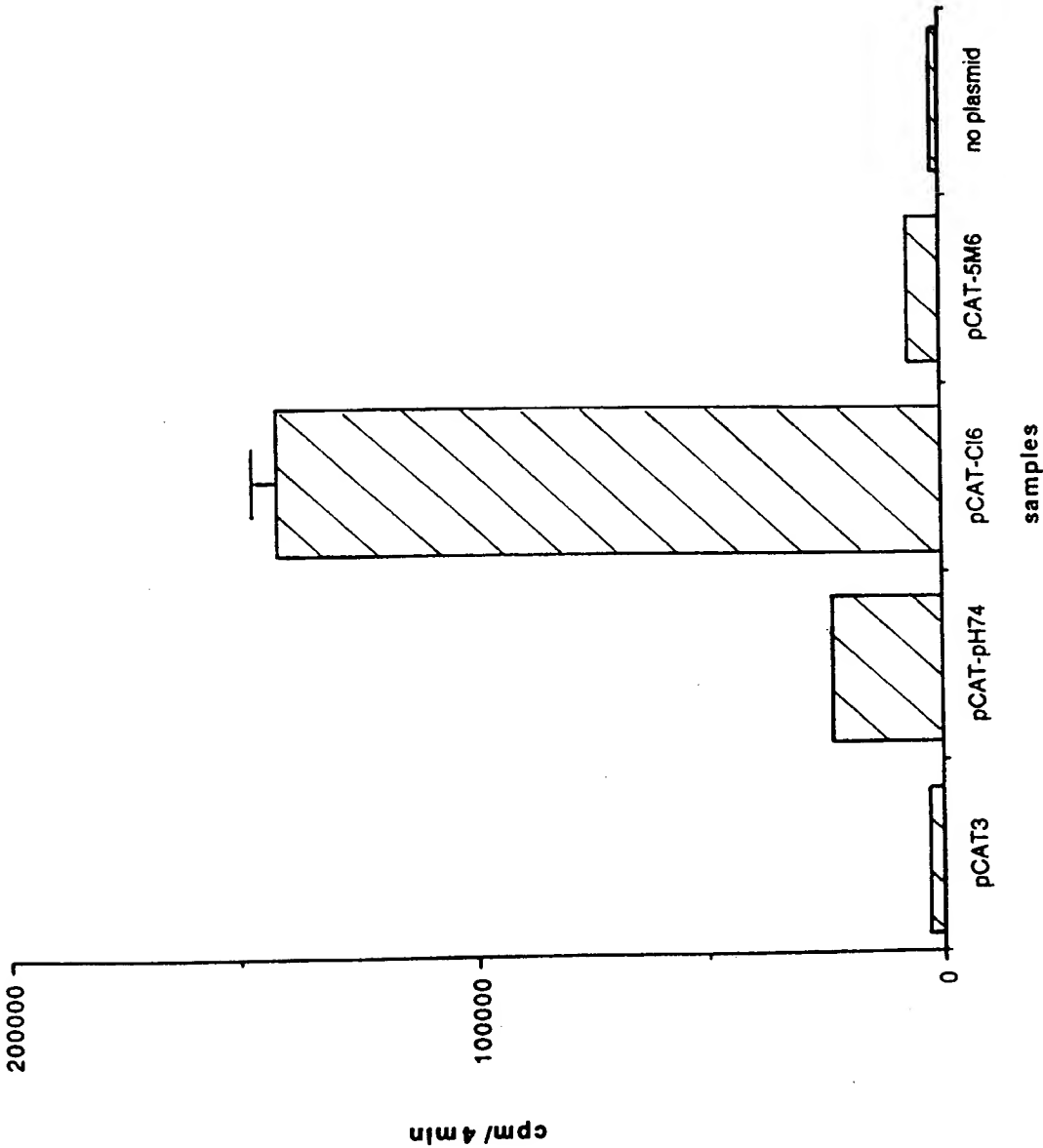


FIG 12

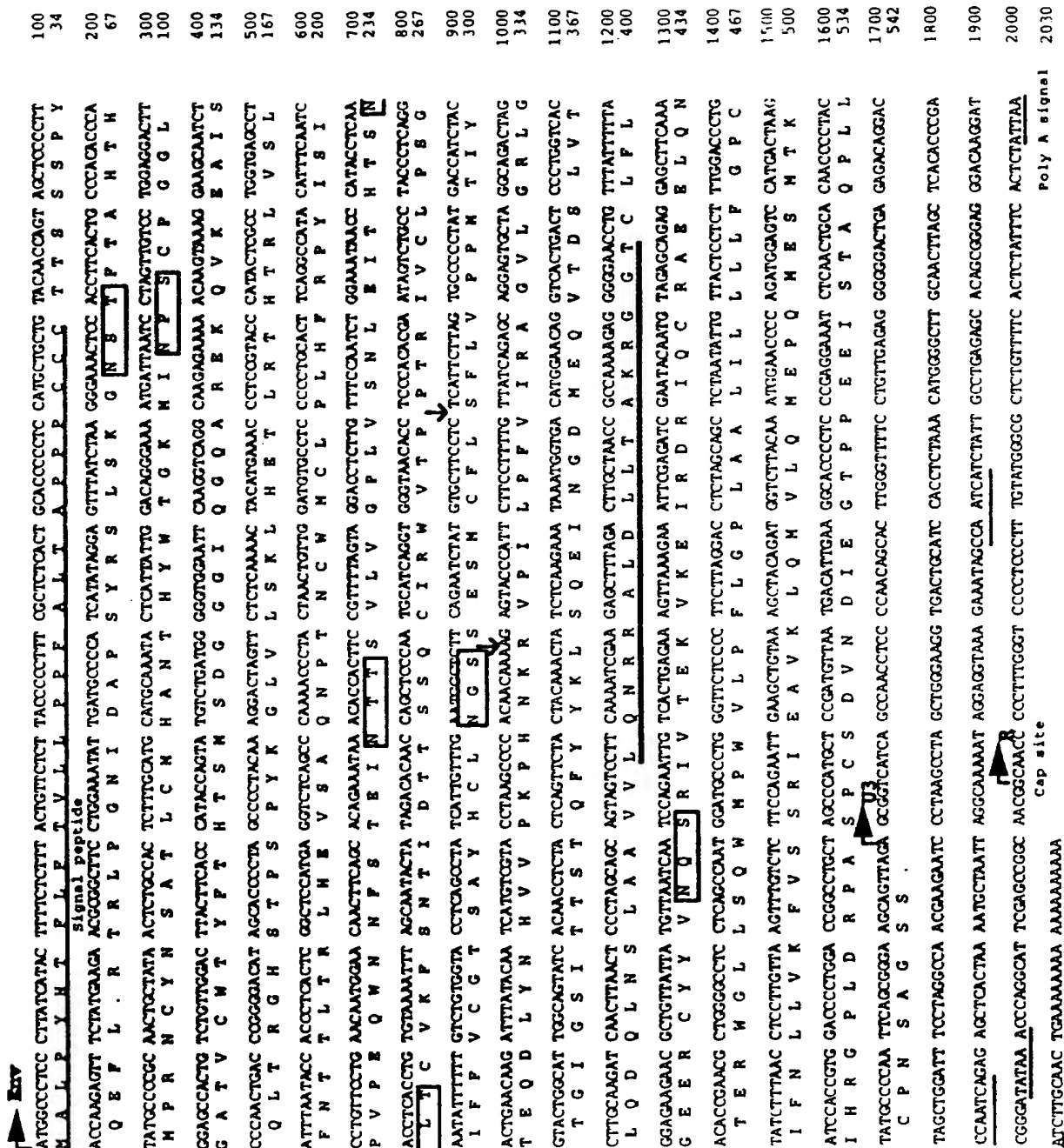


FIG 14

100	CAGCAACCCC	CTTTGGGTCC	CTTCCCATTTG	TATGGGAGCT	CTGTTTTCAC	TCTATTTCAC	TCTATTTCAC	CATGCAACTG	CACCTCTCTG	GTCCGTGTTT
200	TTTATGGCTC	AAGCTGAGCT	TTTGTTCGCC	ATCCACCACCT	GCTGTTTGCC	ACCGTCACAG	ACCGCTGCTG	GACITCCATC	CTTTGGATC	CAGCAGATG
300	TCCGTGTGC	TCCTGATCCA	GCACAGGCGC	CCATTGCCCT	TCCCAATGGG	GCTAAAGGCT	TGCCATTGTT	CTGTACACAG	TAAGTGCCTG	GGTTTCCTCT
400	AATCGAGCTG	AACACTAGTC	ACTGGGTTC	ACGGTTCCT	TCCATGACCC	ATGCGTTCCTA	ATAGAGTAT	AACACTCACT	GCATGTCCA	AGATTCCATT
500	CCTTGGATC	CGTGAGACCA	AGAACCCCG	CTCAGAGAAC	ACAAGGCTG	CCACCATGTT	GGAAGCAGCC	CACCACCATT	TTGGAAGCAG	CCCGCCACTA
600	TCTTGGGAGC	AGGACCCCG	GTAACAATTT	GGTGACCACG	AAGGACCTG	AATCCGCAAC	CATGAAGGGA	TCCTCAAAGC	ATGGGAAAC	
700	GTTCCTCCCG	AGGCAAAAAT	GCCCCTAGAA	CGTATTCCTG	AGAAITGGGA	CCAATGTGAC	ACTCAGAGCG	TAAGAAAGAA	AGGATTTATA	TTCTTCGCA
800	GTACCGCCTG	GCCACAATAT	CCCTCTTCAAG	GGAGAGAAAC	CTGGCTTCCT	GAGGGAAGTA	TAAATTATTA	CATCATCTTA	CAGCTAGACC	TCTTCTGTAG
900	AAAGGAGGCG	AAATGGAGTG	AAGTGCCATA	TGTGCAAACT	TTCTTTTCAT	TAAGAGACAA	CTCACAATTA	TGTAAAAGT	GTGTTTATG	CCCTACAGGA
1000	AGCCCTCAGA	GTCCACCTCC	CTACCCACGC	GTCCCTCTCC	CGACTCTTCC	CTCAACTAAT	AAGGACCCCG	CTTTAACCCA	AACGGTCCAA	AAGGAGATAG
1100	ACRAAGGGGT	AAACAANTGAA	CCAAAGAGTG	CCAAATATCC	CCGATTATGC	CCCTTCCAAG	CAGTGAGAGG	AGGAGAATTC	GGCCACGCCA	GAGTGCCTGT
1200	ACCTTTTCT	CTCTCAGACT	TAAAGCAAT	TAAATAGAC	CTAGGTAAAT	TCTCAGATAA	CCCTGACGGC	TATATTGATG	TTTTACAAGG	GTTAGGACAA
1300	TCCTTTGATC	TGACATGGAG	AGATATATATG	TTACTACTAA	ATCAGACACT	AACCCCAAT	GAGAGAAGTG	CCGCTGTATC	TGCAGCCGA	GAGTTTGGCG
1400	ATCTTTGGTA	TCCTCAGTCAG	GCCAAACAATA	GGATGACAAC	AGAGGAAAGA	ACAACCTCCA	CAGGCCAGCA	GGCAGTTCCC	AGTGTAGACC	CTCATTTGGGA
1500	CACAGAATCA	GAACATGGAG	ATTGGTGCCA	CAAAATTTG	CTAACTTGG	TGCTAGAAGG	ACTGAGGAAA	ACTAGGAAGA	AGCCTATGAA	TTACTCAATG
1600	ATGTCCACTA	TAACACAGGG	AAAGGAAGAA	AATCTTACTG	CTTTTCTGGA	CAGACTAAGG	GAGGCATGA	GGAAGCATAC	CTCCCTGTCA	CCTGACTCTA
1700	TTGAAGGCCA	ACTAATCTTA	AAGGATAAGT	TTATCACTCA	GTCCAGTCCA	GACATTAGAA	AAAACTTCA	AAAGTCCGTC	TTAGGCTCGG	AACAAAACCTT
1800	AGAAACCCCTA	TTGAACCTG	CAACCTCGGT	TTTTTATAAT	AGAGATCAGG	AGGAGCAGGC	AGAAAGGAC	AAATGGGATA	AAAAAAAG	GGCCACCGCT
1900	TTATGTCATG	CCCTCAGGCA	AGCGGACTTT	GGAGCTCTG	GAAAGGGAA	AAGCTGGCA	AATAGGAAGC	CTAATAGGCG	TTGCTTCCAG	TGCGGTCTAC
2000	AAGGACACTT	TAAAAAAGAT	TGTCCAATA	GAATPAAGCC	GCCCCCTTGT	CCATGCCCTT	TAGCTCAAGG	GAATCACTGG	AAGGCCACT	GCCCCAGGG
2055	ATCAAGATAC	TCTGAGTCAG	AAGCCATTAA	CCAGATGATC	CAGCAGCAG	ACTGA				
487	S R Y S E S E A I N Q M I Q Q Q D									

FIG 15

100 GGACCCGTAG TATGGGTAA TCCCTCCGG GAACCAAGC CCAGTACTC AGAAGAGAA ATAGATGGG GAACCTCAG AGGACATGGT TTCTCCCTCT
 34 G P V V W G N P L R E T K P Q Y S E E E I E W G T S R G H G F L P S
 200 CAGGATGGCT AGCCACTGAA GAAGGAJAAA TACTTTTGGT GGCAGCTAAC CAATGGAAAT TACTTAAJAC CTTTCAGCAA ACCTTCCACT TAGGCATTGA
 67 G W L A T E E G K I L L L A A N Q W K L L K T L Q Q T P E L G I D
 300 TAGCACCCAT CAGATAGCCA ATCATTATT TACTGGACCA GGCCTTTTCA AAATATCAA GCAGATAGTC AGGGCCTGTG AGTGTGCCA AGAAATTAAT
 100 S T E Q I A K S L P T G P G L P K T I K Q I V R A E V E Q R N M
 400 CCCCTGCCTT ATGCCCAAGC TCCTTCAGGA GAACAAGAA CAGGCAATTA CCCAAGAGAA GACTGGCAAC TAGATTTTAT CCACATGCCA AAATCAGAG
 134 P L P Y R Q A P S G E Q R T G N Y P R E D W Q L D F I H M P K S Q G
 500 GATTTCAGTG TCTACTAGTC TGGTAGATA CTTTCACTGG TTGGGACAG GCTTCCCTT GTAGGACAGA AAAGTTCCAA GAGGTAAATA AGGCACTAGT
 167 F Q C L L V W V D T F T G W A E A P P C R T E K F Q E V I K A L V
 600 TCATGAAGTA ATTCCAGAT TCGGACTTCC CTGAGGCTTA CAGAGTGACA ATGCTCTGTC TTTCAGGCC ACAGTAACCC AGGGAGTATC CCAGGCGTTA
 200 H E V I P R F G L P G L Q S D N G P A F K A T V T Q G V S Q A L
 700 GGTATAGAAT ATCACTTACA CTGCACCTAG AGGCCAAT CTTCAGGAA GGTTCAGAA ATGA~~AT~~ACAC TCAAGGACA TCTAAACAG CTAAACCAGG
 234 G I E Y H L H C T . R P Q S S G K V E K M K T L K R H L N K L T Q E
 800 AAACCCACT CGCATGGTCT GCTCTGTGT CTATAGCCTT ACTAGAAATC CAJAACTCTC CCCAAAGGC AGGACTTAGC CCATACAGAA TGCTGTATGG
 267 T H L A W S A L L S I A L L R I Q N S P Q K A G L S P Y R M L Y G
 900 ACGGTCTTTC CTAAACCAATG ACCTTCTGCT TGACCAAGAG ATGGCCAACT TAGTTGCAGA CATCACCTCC TTAGCCAAAT ATCAACAAGT TCTTAAACA
 300 R S F L T H D L L L D Q E M A H L V A D I T S L A K Y Q Q V L K T
 1000 TTACAAAGG CCTGTCCCG AGAGGAGGA AAAGAATAT TCCACCCCTGG TGTCAATGTA TTAGTCAAGT CCCTTCCCTC TAATTCGCCA TCCCTAGACA
 334 L Q G A C P R E E G K E I P H P G V M V L V K S L P S M S P S L D T
 1100 CATCTGGG AGGACCTTAC CCAGTCATTT TATCTATCCC AACTGCGTT AAATGGCTG GAGTGGAGTC TTGATACAT CACACTGAA TCAJACCTG
 367 S W G G P Y P V I L S I P T A V K V A G V E S W I H H T R I K P M
 1197 GATACTGCC AGGAACTCG AAATCCAGG GGACACGCT AGCTATTTCT TTGAACCTCT AGAGGATCTG TGCTGCTCT TCAJGCAACA ACCGTGA
 398 I L P K E P E N P G D N A S Y F F E P L E D L C L L F K Q Q P

FIG 16

100 GAGATGGCA GGTATGTTG CTTGGCGAGA GTAGGAGAG AACGAGAAA GTACAGAAA GAAAGAAA GAGGAGAAA
 ENS SI SW LAE V G K D S K K . R K K G E S Q R K K R E E E T
 200 CAAGAGAAA CTTGAGAGA GAAAGAGTA GTAAAGAAA AACAGTATAC CCTATCTCTT TAAAGTACG CTAATATTC TGCTTACTTA GGCAGGCAAT
 K K N L K R E R S S K E K T V Y P I P L K A R V N F C L P S Q G I
 300 ATCTTCTTA TGTGAAAT CAACCTATAT CTTCTTCCC ACTACTGGA CAGGCGCAG AACCTGTGCT TTCTTATGTC CCAACATTA CATGCCCCA
 F F L C G T S T Y I C L P T N W T G T R T L V F L S P N I N I A P
 400 GAAATGAGA CCTATCTGT ACTGTGAAA CTTAAAGTCC GTCACTGAG AACATGAAA CTATATCCC TATTTATGCG GTTAGAGAG GCTACTGCTA
 G N Q T L L V P V K A K V R Q C R A I Q L I S L F I G L G M A T A T
 500 CAGAGTGG ANTAGGCTT TMTCTACTT CATATCTCTA CTACATATA CTTCTAAGA ATTTCTAGA CAGTTTGOA GAAATATGA ANTCTATCT
 G T G I A G L S T S L S Y Y H T L S K N F S D S L Q E I M K S I L
 600 TACTTCAA TTTCAATAG ACTTTTGGT ACGATGACT CTTCAATCC GCGAGGCC ACCTCTCT ACCTCTGA AAGTACCT CTTCACTTC
 T L Q S Q L D S L A A M T L Q N R R G P H L L L T A E K G L C T F
 700 TTAGGAG AGTGTGTTT TTTACTTAC CACTACAGA TATTACAGA TCCACTTG CATTTAGS AAGCTTTC TATTATGA CATTGCTTT
 L G E C C F Y T N Q S G I V R D A T W H L Q E R A S D I R Q C L S
 800 CAATCTTA TCCACTTC TGAATGCG CAAGATGCT TTTCTATT CTAGTGOA TGGAGTAT CTTCTGTA CTTACTTG GGCCTGTAT
 N S Y T N L W S W A T W L L P F L G P M A A I L L L L T F G P C I
 900 TTTTACTT CTTCTAAT TTTTCTC TGAATGGA GGCCTAGC TACAGTGT CTTCAATG GACCTGAA TGGTTTAC TAAACTTC
 F K L L V K F V S S R I E A I K L Q M V L Q M E P Q M S S T N N F
 1000 TACAGGAC CCGTAGAG ATCCTGCT ACTTCACTA GCGTAGAT TCCCTCTG AGACATAC AACCTGAG CCGTCTTT GCGCTATCC
 Y Q G P L E R S T G T S T S L E I P L W K T L Q L Q G P F F A P I Q
 1100 ACGAGAGT AGCTAGAGS GTATGAGC AATTTGAA CACTGTTG GGTCTCTT TTAGGCGG GATGAGAG TGAAGCT CCGTGGAGC
 Q E V A R A V I G Q I P N S S W G V L F R G G I E E . A C W Q P
 1200 TACAGGCT CTTGACTT CAGTCTTC TACCTTGG TCCACTCT GCGGTGCTT GAGGAGCT TACGCTTC AGTGAAT CAGGAGCTT
 H S P R W I S V P P Q P W C P L W P C L R S P S A C H C T V G A S
 1300 TTTCTGCT GACAGGAG GATCTACT CTTAGCTTG CAGGAGGTA TGGAGAGA GATGAGAG GATGAGAG CTTGAGAG CCGTGGCGG
 F W A G Q G R S Q L P Q L A G R Y G G R D A G G N Q G C A W R L R A
 1400 CCGGAGT TTTAGCTG GGTGCTTC GCGGCGCC ACCTGAGC AGTGGGTC TTGAGGTC GGTAGAGG ATGCTGCTT CACTTCTTC
 S M S S R W A W A R R A P H S G S E G L S T W A R Q M L C S T S S
 1500 CTTGCTTT ACTTCTTC CCGTCTTC AGCTTACG GAACTGAG CTTGCTATG CTTGCTATG CTAAGCTTC CAGCTGCTT CAGAGGGA
 L G L S C L P R G A G L R E H A A C P C L S P P P R R G F L H S P
 1600 AGCTTGG AGAGAGCA CCGTCTAT AGCTGCTTA CCGCTGGA CCGCTGAG GTTGAAGT CCGCTGAG AGCTGCTT TCGAGGAG
 S F P D K H H P L S T V P S P I N H P R V E E C G H T A R D W Q A V
 1700 TTTACTTC CCGTCTG CCGATGAG CACTGAGT CCGTCTG GCGGCTT CAGAGTCT TATGCTTAC TATGCTTAC
 P L A A L V R D P L R E A S W A P E S G G D L E N L Y V L R D C
 TAAATGACC ANTGAGC
 K Y T N Q H

1719

LISTE DE SEQUENCES

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 68:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 5 (A) LONGUEUR: 34 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

10 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 68:

GACTCGCTGC AGATCGATTT TTTTTTTTTT TTTT

34

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 69:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 15 (A) LONGUEUR: 30 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

20 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 69:

GCCATCAAGC CACCCAAGAA CTCTTAAGT

30

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 70:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 25 (A) LONGUEUR: 30 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

30 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 70:

CCAATAGCCA GACCATTATA TACACTAATT

30

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 112:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 35 (A) LONGUEUR: 310 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide

2

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 112:

```

5  GCTTATAGAA GGACCCCTAG TATGGGGTAA TCCCCTCTGG GAAACCAAGC CCCAGTACTC 60
   AGCAGGAAAA ATAGAATAGG AAACCTCACA AGGACATACT TTCCTCCCCT CCAGATGGCT 120
   AGCCACTGAG GAAGGAAAAA TACTTTCACC TGCAGCTAAC CAACAGAAAT TACTTAAAC 180
   CCTTCACCAA ACCTTCCACT TAGGCATTGA TAGCACCCAT CAGATGGCCA AATTATTATT 240
   TACTGGACCA GGCCTTTTCA AAACATCAAA GAAGATAGTC AGGGGCTGTG AAGTGTGCCA 300
10 AAGAAATAAT 310

```

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 113:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

```

15 (A) LONGUEUR: 103 acides aminés
    (B) TYPE: acide aminé
    (C) NOMBRE DE BRINS: simple
    (D) CONFIGURATION: linéaire

```

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 113:

```

20  Leu Ile Glu Gly Pro Leu Val Trp Gly Asn Pro Leu Trp Glu Thr Lys
    1             5             10             15
    Pro Gln Tyr Ser Ala Gly Lys Ile Glu Xaa Glu Thr Ser Gln Gly His
                20             25             30
    Thr Phe Leu Pro Ser Arg Trp Leu Ala Thr Glu Glu Gly Lys Ile Leu
25             35             40             45
    Ser Pro Ala Ala Asn Gln Gln Lys Leu Leu Lys Thr Leu His Gln Thr
                50             55             60
    Phe His Leu Gly Ile Asp Ser Thr His Gln Met Ala Lys Leu Leu Phe
    65             70             75             80
30  Thr Gly Pro Gly Leu Phe Lys Thr Ile Lys Lys Ile Val Arg Gly Cys
                85             90             95
    Glu Val Cys Gln Arg Asn Asn
                100

```

35 (2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 114:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 635 paires de bases

(B) TYPE: nucléotide

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

5 (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 114:

```

CCCTGTATCT TTAACCTCCT TGTTAAGTTT GTCTCTTCCA GAATCAAAAC TGTA AAAACTA 60
CAAATTGTTT TTCAAATGGA GCACCAGATG GAGTCCATGA CTAAGATCCA CCGTGGACCC 120
CTGGACCGGC CTGCTAGCCC ATGCTCCGAT GTTAATGACA TTGAAGGCAC CCCTCCCGAG 180
10 GAAATCTCAA CTGCACAACC CCTACTATGC CCCAATTCAG CGGGAAGCAG TTAGAGCGGT 240
CATCAGCCAA CCTCCCCAAC AGCACTTGGG TTTTCCTGTT GAGAGGGGGG ACTGAGAGAC 300
AGGACTAGCT GGATTTCCTA GGCCAACGAA GAATCCCTAA GCCTAGCTGG GAAGGTGACT 360
GCATCCACCT CTAAACATGG GGCTTGCAAC TTAGCTCACA CCCGACCAAT CAGAGAGCTC 420
ACTAAATGC TAATTAGGCA AAAATAGGAG GTAAAGAAAT AGCCAATCAT CTATTGCCTG 480
15 AGAGCACAGC GGGAGGGACA AGGATCGGGA TATAAACCCA GGCATTGAG CCGGCAACGG 540
CAACCCCTT TGGGTCCCCT CCCTTTGTAT GGGCGCTCTG TTTTCACTCT ATTTCACTCT 600
ATTAAATCTT GCAACTGAAA AAAAAAAAAA AAAAA 635

```

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 115:

20 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 77 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

25 (ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 115:

```

Pro Cys Ile Phe Asn Leu Leu Val Lys Phe Val Ser Ser Arg Ile Lys
1           5           10           15
Thr Val Lys Leu Gln Ile Val Leu Gln Met Glu His Gln Met Glu Ser
30           20           25           30
Met Thr Lys Ile His Arg Gly Pro Leu Asp Arg Pro Ala Ser Pro Cys
35           40           45
Ser Asp Val Asn Asp Ile Glu Gly Thr Pro Pro Glu Glu Ile Ser Thr
50           55           60
35 Ala Gln Pro Leu Leu Cys Pro Asn Ser Ala Gly Ser Ser
65           70           75

```

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 116:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 32 paires de bases
 5 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 116:

10 TGGGGTTCCA TTTGTAAGAC CATCTGTAGC TT 32

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 117:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 1481 paires de bases
 15 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 117:

20 ATGGCCCTCC CTTATCATAC TTTTCTCTTT ACTGTTCTCT TACCCCTTT CGCTCTCACT 60
 GCACCCCTC CATGCTGCTG TACAACCAGT AGCTCCCCTT ACCAAGAGTT TCTATGAAGA 120
 ACGCGGCTTC CTGGAATAT TGATGCCCCA TCATATAGGA GTTATCTAA GGGAACTCC 180
 ACCTTCACTG CCCACACCCA TATGCCCCGC AACTGCTATA ACTCTGCCAC TCTTTCATG 240
 CATGCAAATA CTCATTATTG GACAGGGAAA ATGATTAATC CTAGTTGTCC TGGAGGACTT 300
 25 GGAGCCACTG TCTGTTGGAC TTA CTTCACC CATAACAGTA TGTCTGATGG GGGTGAATT 360
 CAAGGTCAGG CAAGAGAAAA ACAAGTAAAG GAAGCAATCT CCCAACTGAC CCGGGGACAT 420
 AGCACCCCTA GCCCTACAA AGGACTAGTT CTCTCAAAAC TACATGAAAC CCTCCGTACC 480
 CATACTCGCC TGGTGAGCCT ATTTAATACC ACCCTCACTC GGCTCCATGA GGTCTCAGCC 540
 CAAAACCCTA CTAATGTTG GATGTGCCTC CCCCTGCACT TCAGGCCATA CATTTCAATC 600
 30 CCTGTTCTTG AACAATGGAA CAACTTCAGC ACAGAAATAA ACACCACTTC CGTTTTAGTA 660
 GGACCTCTTG TTTCCAATCT GGAAATAACC CATACTCAA ACCTCACCTG TGTAATTTT 720
 AGCAATACTA TAGACACAAC CAGCTCCCAA TGCATCAGGT GGGTAACACC TCCCACACGA 780
 ATAGTCTGCC TACCCTCAGG AATATTTTTT GTCTGTGGTA CCTCAGCCTA TCATTGTTT 840
 AATGGCTCTT CAGAATCTAT GTGCTTCCTC TCATTCTTAG TGCCCCCTAT GACCATCTAC 900
 35 ACTGAACAAG ATTTATACAA TCATGTCGTA CCTAAGCCCC ACAACAAAAG AGTACCCATT 960
 CTTCTTTTGG TTATCAGAGC AGGAGTGCTA GGCAGACTAG GTACTGGCAT TGGCAGTATC 1020

ACAACCTCTA CTCAGTTCTA CTACAACTA TCTCAAGAAA TAAATGGTGA CATGGAACAG 1080
 GTCAGTACT CCCTGGTCAC CTTGCAAGAT CAACTTAACT CCCTAGCAGC AGTAGTCCTT 1140
 CAAAATCGAA GAGCTTTAGA CTTGCTAACC GCCAAAAGAG GGGGAACCTG TTTATTTTAA 1200
 GGAGAAGAAC GCTGTTATTA TGTAAATCAA TCCAGAATTG TCACTGAGAA AGTTAAAGAA 1260
 5 ATTTCGAGATC GAATACAATG TAGAGCAGAG GAGCTTCAAA ACACCGAACG CTGGGGCCTC 1320
 CTCAGCCAAT GGATGCCCTG GGTTCTCCCC TTCTTAGGAC CTCTAGCAGC TCTAATATTG 1380
 TTAATCCTCT TTGGACCCTG TATCTTTAAC CTCCTTGTTA AGTTTGTCTC TTCCAGAATT 1440
 GAAGCTGTAA AGCTACAGAT GGTCTTACAA ATGGAACCCC A 1481

10 (2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 118:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 493 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

15 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 118:

Met Ala Leu Pro Tyr His Thr Phe Leu Phe Thr Val Leu Leu Pro Pro
 1 5 10 15
 20 Phe Ala Leu Thr Ala Pro Pro Pro Cys Cys Cys Thr Thr Ser Ser Ser
 20 25 30
 Pro Tyr Gln Glu Phe Leu Xaa Arg Thr Arg Leu Pro Gly Asn Ile Asp
 35 40 45
 Ala Pro Ser Tyr Arg Ser Leu Ser Lys Gly Asn Ser Thr Phe Thr Ala
 25 50 55 60
 His Thr His Met Pro Arg Asn Cys Tyr Asn Ser Ala Thr Leu Cys Met
 65 70 75 80
 His Ala Asn Thr His Tyr Trp Thr Gly Lys Met Ile Asn Pro Ser Cys
 85 90 95
 30 Pro Gly Gly Leu Gly Ala Thr Val Cys Trp Thr Tyr Phe Thr His Thr
 100 105 110
 Ser Met Ser Asp Gly Gly Gly Ile Gln Gly Gln Ala Arg Glu Lys Gln
 115 120 125
 Val Lys Glu Ala Ile Ser Gln Leu Thr Arg Gly His Ser Thr Pro Ser
 35 130 135 140
 Pro Tyr Lys Gly Leu Val Leu Ser Lys Leu His Glu Thr Leu Arg Thr

	145		150		155		160
	His Thr Arg Leu Val Ser Leu Phe Asn Thr Thr Leu Thr Arg Leu His						
		165		170		175	
	Glu Val Ser Ala Gln Asn Pro Thr Asn Cys Trp Met Cys Leu Pro Leu						
5		180		185		190	
	His Phe Arg Pro Tyr Ile Ser Ile Pro Val Pro Glu Gln Trp Asn Asn						
		195		200		205	
	Phe Ser Thr Glu Ile Asn Thr Thr Ser Val Leu Val Gly Pro Leu Val						
		210		215		220	
10	Ser Asn Leu Glu Ile Thr His Thr Ser Asn Leu Thr Cys Val Lys Phe						
		225		230		235	240
	Ser Asn Thr Ile Asp Thr Thr Ser Ser Gln Cys Ile Arg Trp Val Thr						
		245		250		255	
	Pro Pro Thr Arg Ile Val Cys Leu Pro Ser Gly Ile Phe Phe Val Cys						
15		260		265		270	
	Gly Thr Ser Ala Tyr His Cys Leu Asn Gly Ser Ser Glu Ser Met Cys						
		275		280		285	
	Phe Leu Ser Phe Leu Val Pro Pro Met Thr Ile Tyr Thr Glu Gln Asp						
		290		295		300	
20	Leu Tyr Asn His Val Val Pro Lys Pro His Asn Lys Arg Val Pro Ile						
		305		310		315	320
	Leu Pro Phe Val Ile Arg Ala Gly Val Leu Gly Arg Leu Gly Thr Gly						
		325		330		335	
	Ile Gly Ser Ile Thr Thr Ser Thr Gln Phe Tyr Tyr Lys Leu Ser Gln						
25		340		345		350	
	Glu Ile Asn Gly Asp Met Glu Gln Val Thr Asp Ser Leu Val Thr Leu						
		355		360		365	
	Gln Asp Gln Leu Asn Ser Leu Ala Ala Val Val Leu Gln Asn Arg Arg						
		370		375		380	
30	Ala Leu Asp Leu Leu Thr Ala Lys Arg Gly Gly Thr Cys Leu Phe Leu						
		385		390		395	400
	Gly Glu Glu Arg Cys Tyr Tyr Val Asn Gln Ser Arg Ile Val Thr Glu						
		405		410		415	
	Lys Val Lys Glu Ile Arg Asp Arg Ile Gln Cys Arg Ala Glu Glu Leu						
35		420		425		430	
	Gln Asn Thr Glu Arg Trp Gly Leu Leu Ser Gln Trp Met Pro Trp Val						

7

435 440 445
 Leu Pro Phe Leu Gly Pro Leu Ala Ala Leu Ile Leu Leu Leu Leu Phe
 450 455 460
 Gly Pro Cys Ile Phe Asn Leu Leu Val Lys Phe Val Ser Ser Arg Ile
 5 465 470 475 480
 Glu Ala Val Lys Leu Gln Met Val Leu Gln Met Glu Pro
 485 490

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 119:

10 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 32 paires de bases

(B) TYPE: nucléotide

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

15 (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 119:

TCAAAATCGA AGACCTTTAG ACTTGCTAAC CG

32

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 120:

20 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 1329 paires de bases

(B) TYPE: nucléotide

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

25 (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 120:

TCAAAATCGA AGACCTTTAG ACTTGCTAAC CGCCAAAAGA GGGGGAACCT GTTTATTTTT 60
 AGGGGAAGAA TGCTGTTAGT ATGTTAATCA ATCTGGAATC ATTACTGAGA AAGTTAAAGA 120
 AATTTGAGAT CGAATATAAT GTAGAGCAGA GGACCTTCAA AACACTGCAC CCTGGGGCCT 180
 30 CCTCAGCCAA TGGATGCCCT GGACTCTCCC CTTCTTAGGA CCTCTAGCAG CTATAATATT 240
 TTTACTCCTC TTTGGACCCT GTATCTTCAA CTCCTTGTT AAGTTTGTCT CTTCCAGAAT 300
 TGAAGCTGTA AAGCTACAAA TAGTTCTTCA AATGGAACCC CAGATGCAGT CCATGACTAA 360
 AATCTACCGT GGACCCCTGG ACCGGCCTGC TAGACTATGC TCTGATGTTA ATGACATTGA 420
 AGTCACCCCT CCCGAGGAAA TCTCAACTGC ACAACCCCTA CTACACTCCA ATTCAGTAGG 480
 35 AAGCAGTTAG AGCAGTTGTC AGCCAACTC CCCAACAGTA CTTGGGTTTT CCTGTTGAGA 540
 GGGTGGACTG AGAGACAGGA CTAGCTGGAT TTCCTAGGCT GACTAAGAAT CCCNAAGCCT 600

ANCTGGGAAG GTGACCGCAT CCATCTTTAA ACATGGGGCT TGCAACTTAG CTCACACCCG 660
 ACCAATCAGA GAGCTCACTA AAATGCTAAT CAGGCAAAAA CAGGAGGTAA AGCAATAGCC 720
 AATCÄTCTAT TGCCTGAGAG CACAGCGGGA AGGACAAGGA TTGGGATATA AACTCAGGCA 780
 TTCAAGCCAG CAACAGCAAC CCCCTTTGGG TCCCCTCCCA TTGTATGGGA GCTCTGTTTT 840
 5 CACTCTATTT CACTCTATTA AATCATGCAA CTGCACTCTT CTGGTCCGTG TTTTTTATGG 900
 CTCAAGCTGA GCTTTTGTTC GCCATCCACC ACTGCTGTTT GCCACCGTCA CAGACCCGCT 960
 GCTGACTTCC ATCCCTTTGG ATCCAGCAGA GTGTCCACTG TGCTCCTGAT CCAGCGAGGT 1020
 ACCCATTGCC ACTCCCGATC AGGCTAAAGG CTTGCCATTG TTCCTGCATG GCTAAGTGCC 1080
 TGGGTTTGTC CTAATAGAAC TGAACACTGG TCACTGGGTT CCATGGTTCT CTTCCATGAC 1140
 10 CCACGGCTTC TAATAGAGCT ATAACACTCA CCGCATGGCC CAAGATTCCA TTCCTTGGTA 1200
 TCTGTGAGGC CAAGAACCCC AGGTCAGAGA ANGTGAGGCT TGCCACCATT TGGGAAGTGG 1260
 CCCACTGCCA TTTTGGTAGC GGCCCACCAC CATCTTGGGA GCTGTGGGAG CAAGGATCCC 1320
 CCAGTAACA 1329

15 (2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 121:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 162 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

20 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 121:

Gln Asn Arg Arg Ala Leu Asp Leu Leu Thr Ala Lys Arg Gly Gly Thr
 1 5 10 15
 25 Cys Leu Phe Leu Gly Glu Glu Cys Cys Xaa Tyr Val Asn Gln Ser Gly
 20 25 30
 Ile Ile Thr Glu Lys Val Lys Glu Ile Xaa Asp Arg Ile Xaa Cys Arg
 35 40 45
 Ala Glu Asp Leu Gln Asn Thr Ala Pro Trp Gly Leu Leu Ser Gln Trp
 30 50 55 60
 Met Pro Trp Thr Leu Pro Phe Leu Gly Pro Leu Ala Ala Ile Ile Phe
 65 70 75 80
 Leu Leu Leu Phe Gly Pro Cys Ile Phe Asn Phe Leu Val Lys Phe Val
 85 90 95
 35 Ser Ser Arg Ile Glu Ala Val Lys Leu Gln Ile Val Leu Gln Met Glu
 100 105 110

9

Pro Gln Met Gln Ser Met Thr Lys Ile Tyr Arg Gly Pro Leu Asp Arg
 115 120 125
 Pro Ala Arg Leu Cys Ser Asp Val Asn Asp Ile Glu Val Thr Pro Pro
 130 135 140
 5 Glu Glu Ile Ser Thr Ala Gln Pro Leu Leu His Ser Asn Ser Val Gly
 145 150 155 160
 Ser Ser

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 122:

10 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 21 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

15 (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 122:

GGCATTGATA GCACCCATCA G 21

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 123:

20 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 21 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

25 (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 123:

CATGTCACCA GGGTGAATA G 21

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 124:

30 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

35 (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 124:

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 124:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 5 (A) LONGUEUR: 758 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 124:

10 GGCATTGATA GCACCCATCA GATGGCCAAA TCATTATTTA CTGGACCAGG CCTTTTCAAA 60
 ACTATCAAGC AGATAGGGCC CGTGAAGCAT GCCAAAGAAA TAATCCCCTG CCTTATCGCC 120
 ATGTTCCCTTC AGGAGAACAA AGAACAGGCC ATTACCCAGG GGAAGACTGG CAACTAGATT 180
 TTACCCACAT GGCCAAATGT CAGGGATTTC AGCATCTACT AGTCTGGGCA GATACTTTCA 240
 CTGTTGGGT GGAGTCTTCT CTTGTAGGA CAGAAAAGAC CCAAGAGGTA ATAAAGGCAC 300
 15 TAATGAAATA ATTCCAGAT TTGGACTTCC CCCAGGATTA CAGGGTGACA ATGGCCCCGC 360
 TTCAAGGCT GCAGTAACCC AGGGAGTATC CCAGGTGTTA GGCATACAAT ATCACTTACA 420
 CTGTGCCTGG AGGCCACAAT CCTCCAGAAA AGTCAAGAAA ATGAATGAAA CACTCAAAGA 480
 TCTAAAAAAG CTAACCCAAG AAACCCACAT TGCATGACCT GTTCTGTTGC CTATAACCTT 540
 ACTAAGAATC CATAACTATC CCCC AAAAG CAGGACTTAG CCCATACGAG ATGCTATATG 600
 20 GATGGCCTTT CCTAACCAAT GACCTTGTC TTGACTGAGA AATGGCCAAC TTAGTTGCAG 660
 ACATCACCTC CTTAGCCAAA TATCAACAAG TTCTTAAAC ATCACAGGGA ACCTGTCCCC 720
 GAGAGGAGGG AAAGGAATA TTCCACCCTG GTGACATG 758

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 126:

25 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 25 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

30 (ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 126:

CGGACATCCA AAGTGATGGG AAACG

25

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 127:

35 (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 26 paires de bases

11

- (B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire
(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc
- 5 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 127:
GGACAGGAAA GTAAGACTGA GAAGGC 26
- (2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 128:
- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
- 10 (A) LONGUEUR: 26 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire
(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc
- 15 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 128:
CCTAGAACGT ATTCTGGAGA ATTGGG 26
- (2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 129:
- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
- 20 (A) LONGUEUR: 26 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire
(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc
- 25 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 129:
TGGCTCTCAA TGGTCAAACA TACCCG 26
- (2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 130:
- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
- 30 (A) LONGUEUR: 1511 paires de bases
(B) TYPE: nucléotide
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire
(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc
- 35 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 130:
CCTAGAACGT ATTCTGGAGA ATTGGGACCA ATGTGACACT CAGACGCTAA GAAAGAAACG 60

12

ATTTATATTC TTCTGCAGTA CCGCCTGGCC ACAATATCCT CTTCAAGGGA GAGAAACCTG 120
 GCTTCCTGAG GGAAGTATAA ATTATAACAT CATCTTACAG CTAGACCTCT TCTGTAGAAA 180
 GGAGGGCAAA TGGAGTGAAG TGCCATATGT GCAAACCTTC TTTTCATTAA GAGACAACCTC 240
 ACAATTATGT AAAAAGTGTG GTTTATGCCC TACAGGAAGC CCTCAGAGTC CACCTCCCTA 300
 5 CCCCAGCGTC CCCTCCCCGA CTCCTTCCTC AACTAATAAG GACCCCCCTT TAACCCAAAC 360
 GGTCCAAAAG GAGATAGACA AAGGGGTAAA CAATGAACCA AAGAGTGCCA ATATTCCCCG 420
 ATTATGCCCC CTCCAAGCAG TGAGAGGAGG AGAATTCGGC CCAGCCAGAG TGCCTGTACC 480
 TTTTCTCTC TCAGACTTAA AGCAAATTAA AATAGACCTA GGTAAATTCT CAGATAACCC 540
 TGACGGCTAT ATTGATGTTT TACAAGGGTT AGGACAATCC TTTGATCTGA CATGGAGAGA 600
 10 TATAATGTTA CTAATAATC AGACACTAAC CCCAAATGAG AGAAGTGCCG CTGTAAGTGC 660
 AGCCCGAGAG TTTGGCGATC TTTGGTATCT CAGTCAGGCC AACAATAGGA TGACAACAGA 720
 GGAAAGAACA ACTCCACAG GCCAGCAGGC AGTTCCTCAGT GTAGACCCTC ATTGGGACAC 780
 AGAATCAGAA CATGGAGATT GGTGCCACAA ACATTTGCTA ACTTGCGTGC TAGAAGGACT 840
 GAGGAAAAC AGGAAGAAGC CTATGAATTA CTCAATGATG TCCACTATAA CACAGGGAAA 900
 15 GGAAGAAAAT CTTACTGCTT TTCTGGACAG ACTAAGGGAG GCATTGAGGA AGCATACCTC 960
 CCTGTCACCT GACTCTATTG AAGGCCAACT AATCTTAAAG GATAAGTTTA TCACTCAGTC 1020
 AGCTGCAGAC ATTAGAAAAA ACTTCAAAAG TCTGCCTTAG GCCCGGAGCA GAACTTAGAA 1080
 ACCCTATTTA ACTTGGCATC CTCAGTTTTT TATAATAGAG ATCAGGAGGA GCAGGCGAAA 1140
 CGGGACAAAC GGGATAAAAA AAAAAGGGGG GGTCCACTAC TTTAGTCATG GCCCTCAGGC 1200
 20 AAGCAGACTT TGGAGGCTCT GCAAAAGGGA AAAGCTGGGC AAATCAAATG CCTAATAGGG 1260
 CTGGCTTCCA GTGCGGTCTA CAAGGACACT TTAATAAAGA TTATCCAAGT AGAAATAAGC 1320
 CGCCCCCTTG TCCATGCCCC TTACGTCAAG GGAATCACTG GAAGGCCAC TGCCCCAGGG 1380
 GATGAAGATA CTCTGAGTCA GAAGCCATTA ACCAGATGAT CCAGCAGCAG GACTGAGGGT 1440
 GCCCCGGGCG AGCGCCAGCC CATGCCATCA CCCTCACAGA GCCCCGGGTA TGTTTGACCA 1500
 25 TTGAGAGCCA A 1511

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 131:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 30 (A) LONGUEUR: 352 acides aminés
 (B) TYPE: acide aminé
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 131:

35 Leu Glu Arg Ile Leu Glu Asn Trp Asp Gln Cys Asp Thr Gln Thr Leu
 1 5 10 15

13

	Arg	Lys	Lys	Arg	Phe	Ile	Phe	Phe	Cys	Ser	Thr	Ala	Trp	Pro	Gln	Tyr	
				20					25					30			
	Pro	Leu	Gln	Gly	Arg	Glu	Thr	Trp	Leu	Pro	Glu	Gly	Ser	Ile	Asn	Tyr	
			35					40					45				
5	Asn	Ile	Ile	Leu	Gln	Leu	Asp	Leu	Phe	Cys	Arg	Lys	Glu	Gly	Lys	Trp	
		50					55					60					
	Ser	Glu	Val	Pro	Tyr	Val	Gln	Thr	Phe	Phe	Ser	Leu	Arg	Asp	Asn	Ser	
	65					70				75					80		
	Gln	Leu	Cys	Lys	Lys	Cys	Gly	Leu	Cys	Pro	Thr	Gly	Ser	Pro	Gln	Ser	
10					85				90					95			
	Pro	Pro	Pro	Tyr	Pro	Ser	Val	Pro	Ser	Pro	Thr	Pro	Ser	Ser	Thr	Asn	
				100					105					110			
	Lys	Asp	Pro	Pro	Leu	Thr	Gln	Thr	Val	Gln	Lys	Glu	Ile	Asp	Lys	Gly	
				115				120						125			
15	Val	Asn	Asn	Glu	Pro	Lys	Ser	Ala	Asn	Ile	Pro	Arg	Leu	Cys	Pro	Leu	
		130					135					140					
	Gln	Ala	Val	Arg	Gly	Gly	Glu	Phe	Gly	Pro	Ala	Arg	Val	Pro	Val	Pro	
	145					150				155					160		
	Phe	Ser	Leu	Ser	Asp	Leu	Lys	Gln	Ile	Lys	Ile	Asp	Leu	Gly	Lys	Phe	
20				165					170					175			
	Ser	Asp	Asn	Pro	Asp	Gly	Tyr	Ile	Asp	Val	Leu	Gln	Gly	Leu	Gly	Gln	
				180					185					190			
	Ser	Phe	Asp	Leu	Thr	Trp	Arg	Asp	Ile	Met	Leu	Leu	Leu	Asn	Gln	Thr	
		195					200							205			
25	Leu	Thr	Pro	Asn	Glu	Arg	Ser	Ala	Ala	Val	Thr	Ala	Ala	Arg	Glu	Phe	
		210					215					220					
	Gly	Asp	Leu	Trp	Tyr	Leu	Ser	Gln	Ala	Asn	Asn	Arg	Met	Thr	Thr	Glu	
	225					230				235					240		
	Glu	Arg	Thr	Thr	Pro	Thr	Gly	Gln	Gln	Ala	Val	Pro	Ser	Val	Asp	Pro	
30				245					250					255			
	His	Trp	Asp	Thr	Glu	Ser	Glu	His	Gly	Asp	Trp	Cys	His	Lys	His	Leu	
				260					265					270			
	Leu	Thr	Cys	Val	Leu	Glu	Gly	Leu	Arg	Lys	Thr	Arg	Lys	Lys	Pro	Met	
			275					280						285			
35	Asn	Tyr	Ser	Met	Met	Ser	Thr	Ile	Thr	Gln	Gly	Lys	Glu	Glu	Asn	Leu	
		290						295						300			

14

Thr Ala Phe Leu Asp Arg Leu Arg Glu Ala Leu Arg Lys His Thr Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Pro Asp Ser Ile Glu Gly Gln Leu Ile Leu Lys Asp Lys Phe
 325 330 335
 5 Ile Thr Gln Ser Ala Ala Asp Ile Arg Lys Asn Phe Lys Ser Leu Pro
 340 345 350

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 132:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 10 (A) LONGUEUR: 30 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

15 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 132:

TGCTGGAATT CGGGATCCTA GAACGTATTC

30

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 133:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 20 (A) LONGUEUR: 30 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

25 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 133:

AGTTCTGCTC CGAAGCTTAG GCAGACTTTT

30

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 135:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- 30 (A) LONGUEUR: 398 acides aminés
 (B) TYPE: acide aminé
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

35 (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 135:

Met Gly Ser Ser His His His His His His Ser Ser Gly Leu Val Pro

15

	1		5		10		15									
	Arg	Gly	Ser	His	Met	Ala	Ser	Met	Thr	Gly	Gly	Gln	Gln	Met	Gly	Arg
				20					25					30		
	Ile	Leu	Glu	Arg	Ile	Leu	Glu	Asn	Trp	Asp	Gln	Cys	Asp	Thr	Gln	Thr
5			35					40					45			
	Leu	Arg	Lys	Lys	Arg	Phe	Ile	Phe	Phe	Cys	Ser	Thr	Ala	Trp	Pro	Gln
		50					55					60				
	Tyr	Pro	Leu	Gln	Gly	Arg	Glu	Thr	Trp	Leu	Pro	Glu	Gly	Ser	Ile	Asn
	65					70				75					80	
10	Tyr	Asn	Ile	Ile	Leu	Gln	Leu	Asp	Leu	Phe	Cys	Arg	Lys	Glu	Gly	Lys
				85					90					95		
	Trp	Ser	Glu	Val	Pro	Tyr	Val	Gln	Thr	Phe	Phe	Ser	Leu	Arg	Asp	Asn
				100					105				110			
	Ser	Gln	Leu	Cys	Lys	Lys	Cys	Gly	Leu	Cys	Pro	Thr	Gly	Ser	Pro	Gln
15			115					120					125			
	Ser	Pro	Pro	Pro	Tyr	Pro	Ser	Val	Pro	Ser	Pro	Thr	Pro	Ser	Ser	Thr
		130					135					140				
	Asn	Lys	Asp	Pro	Pro	Leu	Thr	Gln	Thr	Val	Gln	Lys	Glu	Ile	Asp	Lys
	145					150				155					160	
20	Gly	Val	Asn	Asn	Glu	Pro	Lys	Ser	Ala	Asn	Ile	Pro	Arg	Leu	Cys	Pro
				165					170					175		
	Leu	Gln	Ala	Val	Arg	Gly	Gly	Glu	Phe	Gly	Pro	Ala	Arg	Val	Pro	Val
				180					185				190			
	Pro	Phe	Ser	Leu	Ser	Asp	Leu	Lys	Gln	Ile	Lys	Ile	Asp	Leu	Gly	Lys
25			195					200					205			
	Phe	Ser	Asp	Asn	Pro	Asp	Gly	Tyr	Ile	Asp	Val	Leu	Gln	Gly	Leu	Gly
		210					215					220				
	Gln	Ser	Phe	Asp	Leu	Thr	Trp	Arg	Asp	Ile	Met	Leu	Leu	Leu	Asn	Gln
	225					230					235				240	
30	Thr	Leu	Thr	Pro	Asn	Glu	Arg	Ser	Ala	Ala	Val	Thr	Ala	Ala	Arg	Glu
				245					250						255	
	Phe	Gly	Asp	Leu	Trp	Tyr	Leu	Ser	Gln	Ala	Asn	Asn	Arg	Met	Thr	Thr
			260						265				270			
	Glu	Glu	Arg	Thr	Thr	Pro	Thr	Gly	Gln	Gln	Ala	Val	Pro	Ser	Val	Asp
35			275					280					285			
	Pro	His	Trp	Asp	Thr	Glu	Ser	Glu	His	Gly	Asp	Trp	Cys	His	Lys	His

16

290 295 300
 Leu Leu Thr Cys Val Leu Glu Gly Leu Arg Lys Thr Arg Lys Lys Pro
 305 310 315 320
 Met Asn Tyr Ser Met Met Ser Thr Ile Thr Gln Gly Lys Glu Glu Asn
 5 325 330 335
 Leu Thr Ala Phe Leu Asp Arg Leu Arg Glu Ala Leu Arg Lys His Thr
 340 345 350
 Ser Leu Ser Pro Asp Ser Ile Glu Gly Gln Leu Ile Leu Lys Asp Lys
 355 360 365
 10 Phe Ile Thr Gln Ser Ala Ala Asp Ile Arg Lys Asn Phe Lys Ser Leu
 370 375 380
 Pro Lys Leu Ala Ala Ala Leu Glu His His His His His His
 385 390 395

15 (2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 137:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 378 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

20 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 137:

Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Ile Leu Glu Arg
 1 5 10 15
 25 Ile Leu Glu Asn Trp Asp Gln Cys Asp Thr Gln Thr Leu Arg Lys Lys
 20 25 30
 Arg Phe Ile Phe Phe Cys Ser Thr Ala Trp Pro Gln Tyr Pro Leu Gln
 35 40 45
 Gly Arg Glu Thr Trp Leu Pro Glu Gly Ser Ile Asn Tyr Asn Ile Ile
 30 50 55 60
 Leu Gln Leu Asp Leu Phe Cys Arg Lys Glu Gly Lys Trp Ser Glu Val
 65 70 75 80
 Pro Tyr Val Gln Thr Phe Phe Ser Leu Arg Asp Asn Ser Gln Leu Cys
 85 90 95
 35 Lys Lys Cys Gly Leu Cys Pro Thr Gly Ser Pro Gln Ser Pro Pro Pro
 100 105 110

17

Tyr Pro Ser Val Pro Ser Pro Thr Pro Ser Ser Thr Asn Lys Asp Pro
 115 120 125
 Pro Leu Thr Gln Thr Val Gln Lys Glu Ile Asp Lys Gly Val Asn Asn
 130 135 140
 5 Glu Pro Lys Ser Ala Asn Ile Pro Arg Leu Cys Pro Leu Gln Ala Val
 145 150 155 160
 Arg Gly Gly Glu Phe Gly Pro Ala Arg Val Pro Val Pro Phe Ser Leu
 165 170 175
 Ser Asp Leu Lys Gln Ile Lys Ile Asp Leu Gly Lys Phe Ser Asp Asn
 10 180 185 190
 Pro Asp Gly Tyr Ile Asp Val Leu Gln Gly Leu Gly Gln Ser Phe Asp
 195 200 205
 Leu Thr Trp Arg Asp Ile Met Leu Leu Leu Asn Gln Thr Leu Thr Pro
 210 215 220
 15 Asn Glu Arg Ser Ala Ala Val Thr Ala Ala Arg Glu Phe Gly Asp Leu
 225 230 235 240
 Trp Tyr Leu Ser Gln Ala Asn Asn Arg Met Thr Thr Glu Glu Arg Thr
 245 250 255
 Thr Pro Thr Gly Gln Gln Ala Val Pro Ser Val Asp Pro His Trp Asp
 20 260 265 270
 Thr Glu Ser Glu His Gly Asp Trp Cys His Lys His Leu Leu Thr Cys
 275 280 285
 Val Leu Glu Gly Leu Arg Lys Thr Arg Lys Lys Pro Met Asn Tyr Ser
 290 295 300
 25 Met Met Ser Thr Ile Thr Gln Gly Lys Glu Glu Asn Leu Thr Ala Phe
 305 310 315 320
 Leu Asp Arg Leu Arg Glu Ala Leu Arg Lys His Thr Ser Leu Ser Pro
 325 330 335
 Asp Ser Ile Glu Gly Gln Leu Ile Leu Lys Asp Lys Phe Ile Thr Gln
 30 340 345 350
 Ser Ala Ala Asp Ile Arg Lys Asn Phe Lys Ser Leu Pro Lys Leu Ala
 355 360 365
 Ala Ala Leu Glu His His His His His His
 370 375

35

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 138:

18

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 25 paires de bases

(B) TYPE: nucléotide

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

5 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 138:

CTTGGAGGGT GCATAACCAG GGAAT

25

10 (2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 139:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 20 paires de bases

(B) TYPE: nucléotide

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

15 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 139:

TGTC CGCTGT GCTCCTGATC

20

20 (2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 140:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 25 paires de bases

(B) TYPE: nucléotide

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

25 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 140:

CTATGTCCTT TTGGACTGTT TGGGT

25

30 (2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 141:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 764 paires de bases

(B) TYPE: nucléotide

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

35 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 141:

TGTCCGCTGT GCTCCTGATC CAGCACAGGC GCCCATTGCC TCTCCCAATT GGGCTAAAGG 60
 CTTGCCATTG TTCCTGCACA GCTAAGTGCC TGGGTTTCATC CTAATCGAGC TGAACACTAG 120
 TCACTGGGTT CCACGGTTCT CTTCCATGAC CCATGGCTTC TAATAGAGCT ATAACACTCA 180
 5 CTGCATGGTC CAAGATTCCA TTCCTTGGA TCCGTGAGAC CAAGAACCCC AGGTCAGAGA 240
 ACACAAGGCT TGCCACCATG TTGGAAGCAG CCCACCACCA TTTTGGAAGC AGCCCGCCAC 300
 TATCTTGGGA GCTCTGGGAG CAAGGACCCC AGGTAACAAT TTGGTGACCA CGAAGGGACC 360
 TGAATCCGCA ACCATGAAGG GATCTCCAAA GCAATTGGAA ATGTTCTCTC CAAGGCAAAA 420
 ATGCCCCTAA GATGTATTCT GGAGAATTGG GACCAATTTG ACCCTCAGAC AGTAAGAAAA 480
 10 AAATGACTTA TATTCTTCTG CAGTACCGCC CTGGCCACGA TATCCTCTTC AAGGGGGAGA 540
 AACCTGGCCT CCTGAGGGAA GTATAAATTA TAACACCATC TTACAGCTAG ACCTGTTTTG 600
 TAGAAAAGGA GGCAAATGGA GTGAAGTGCC ATATTTACAA ACTTTCTTTT CATTAAAAGA 660
 CAACTCGCAA TTATGTTAAC AGTGTGATT GTGTTCCTAC ACGGAAGCCC TCAGATTCTA 720
 CTCCCCACCC CCGGCATCTC CCCTGAATCC CTCCCCAACT TATT 764

15

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 142:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 800 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 20 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 142:

TGTCCGCTGT GCTCCTGATC CAGCACAGGC GCCCATTGCC TCTCCCAATT GGGCTAAAGG 60
 25 CTTGCCATTG TTCCTGCACA GCTAAGTGCC TGGGTTTCATC CTAATCGAGC TGAACACTAG 120
 TCACTGGGTT CCACGGTTCT CTTCCATGAC CCATGGCTTC TAATAGAGCT ATAACACTCA 180
 CTGCATGGTC CAAGATTCCA TTCCTTGGA TCCGTGAGAC CAAGAACCCC AGGTCAGAGA 240
 ACACAAGGCT TGCCACCATG TTGGAAGCAG CCCACCACCA TTTTGGAAGC GGCCCGCCAC 300
 TATCTTGGGA GCTCTGGGAG CAAGGACCCC CAGGTAACAA TTTGGTGACC ACGAAGGGAC 360
 30 CTGAATCCGC AACCATGAAG GGATCTCCAA AGCAATTGGA AATGTTCTCT CCAAGGCAAA 420
 AATGCCCCTA AGATGTATTG TGGAGAATTG GGACCAATCT GACCCTCAGA CAGTAAGAAA 480
 AAAAATGACT TATATTCTTC TGCAGTACCG CCTGGCCACG GATATCCTCT TCAAGGGGGA 540
 GAAACCTGGC CTCCTGAGGG AAGTATAAAT TATAACACCA TCTTACAGCT AGACCTGTTT 600
 TGTAGAAAAG GAGGCAAATG GAGTGAAGTG CCATATTTAC AAACCTTCTT TTCATTAAAA 660
 35 GACAACTCGC AATTATGTAA ACAGTGTGAT TTGTGTCCTA CAGGAAGCCC TCAGATCTAC 720
 CTCCTTACCC CGGCATCTCC CTGACTCCTT CCCCACCTAA TAAGGACCCA CTTCAGCCCA 780

20

AACAGTCCAA AAGGACATAG

800



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C12N 15/48, C12Q 1/70, C07K 14/15, A61K 31/70	A3	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/02666 (43) Date de publication internationale: 21 janvier 1999 (21.01.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/01460 (22) Date de dépôt international: 7 juillet 1998 (07.07.98) (30) Données relatives à la priorité: 97/08816 7 juillet 1997 (07.07.97) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): BIO MERIEUX [FR/FR]; Chemin de l'Orme, F-69280 Marcy l'Etoile (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): PARAH- NOS-BACCALA, Glaucia [FR/FR]; 75, cours Duguesclin, F-69003 Lyon (FR). KOMURIAN-PRADEL, Florence [FR/FR]; 114, chemin du Pavillon, F-69250 Poleymieux au Mont d'Or (FR). BEDIN, Frédéric [FR/FR]; 6, rue Gaspard André, F-69002 Lyon (FR). SODOYER, Mireille [FR/FR]; 5, rue du Brûlet, F-69110 Sainte Foy les Lyon (FR). OTT, Catherine [FR/FR]; 103, avenue Berthelot, F-69007 Lyon (FR). MALLET, François [FR/FR]; 84, rue Anatole France, F-69100 Villeurbanne (FR). PERRON, Hervé [FR/FR]; 15, rue de Boyer, F-69005 Lyon (FR). MANDRAND, Bernard [FR/FR]; 21, rue de la Doua, F-69100 Villeurbanne (FR).		(74) Mandataire: CABINET GERMAIN & MAUREAU; Boîte postale 6153, F-69466 Lyon Cedex 06 (FR). (81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des</i> <i>revendications, sera republiée si de telles modifications sont</i> <i>reçues.</i> (88) Date de publication du rapport de recherche internationale: 15 avril 1999 (15.04.99)
(54) Title: RETROVIRAL NUCLEIC MATERIAL AND NUCLEOTIDE FRAGMENTS, IN PARTICULAR ASSOCIATED WITH MUL- TIPLE SCLEROSIS AND/OR RHEUMATOID ARTHRITIS, FOR DIAGNOSTIC, PROPHYLACTIC AND THERAPEUTIC USES (54) Titre: MATERIEL NUCLEIQUE RETROVIRAL ET FRAGMENTS NUCLEOTIDIQUES NOTAMMENT ASSOCIES A LA SCLE- ROSE EN PLAQUES ET/OU LA POLYARTHRITE RHUMATOIDE, A DES FINS DE DIAGNOSTIC, PROPHYLAC- TIQUES ET THERAPEUTIQUES (57) Abstract The invention concerns a nucleic material, in isolated or purified state, and a nucleotide fragment comprising a nucleotide sequence selected from the group consisting in (i) the sequences SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO:114, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO. 124, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 141 and SEQ ID NO: 142, (ii) the complementary sequences of sequences (i); and (iii) the sequences equivalent to sequences (ii) and (iii), in particular the sequence having for every series of 100 contiguous monomers, at least 50 %, preferably 70 % homology with sequences (i) and (ii) respectively. The invention also concerns their uses for detecting a retrovirus associated with multiple sclerosis and/or rheumatoid arthritis. (57) Abrégé Matériel nucléique, à l'état isolé ou purifié, et fragment nucléotidique, comprenant une séquence nucléotidique choisie dans le groupe qui consiste en (i) les séquences SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO:114, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 141 et SEQ ID NO: 142, (ii) les séquences complémentaires des séquences (i); et (iii) les séquences équivalentes aux séquences (i) ou (ii), en particulier les séquences présentant pour toute suite de 100 monomères contigus, au moins 50 %, et préférentiellement au moins 70 % d'homologie avec respectivement les séquences (i) ou (ii), et utilisations pour détecter un rétrovirus associé à la sclérose en plaques et/ou la polyarthrite rhumatoïde.		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Bésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
T/FR 98/01460

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C12N15/48 C12Q1/70 C07K14/15 A61K31/70

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C12N C07K C12Q A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	WO 98 23755 A (BIO MERIEUX) 4 June 1998 see the whole document --- -/--	1-26

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 January 1999

Date of mailing of the international search report

17.02.99

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Cupido, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internatic Application No

PCT/FI/01460

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE EMBLHTG SEQ ID NO: HSAC64 Clone humain BAC RG083M05 de 7q21-7q22, 14 February 1997 PAULEY A: "The sequence of H. sapiens BAC clone RG083M05" XP002090413 Compare nucléotides 31070-32453 of RG083M05 with nucléotides 120-1511 of SEQ ID NO:130, nucléotides 35881-37340 of RG085M05 of nucléotides 1-1462 of SEQ ID NO:117, nucléotides 37331-37876 of RG083M05 with nucléotides 70-620 of SEQ ID NO:114 and nucléotides 37333-38260 of RG083M05 with nucléotides 330-1260 of SEQ ID NO:120</p> <p>---</p>	1-18,22
X	<p>DATABASE EMBLHUM2 SEQ ID HSU85196 Homo sapiens BAC378, complete sequence 27 May 1997 BOYSEN C ET AL.: "Analysis of the 1.1-Mb human alpha/delta T-cell receptor locus with bacterial artificial chromosome clones" XP002090414 Compare nucléotides 7150-7510 of HSU85196 with nucléotides 1-361 of SEQ ID NO:141 and SEQ ID NO:142</p> <p>---</p>	1,11, 13-15, 18-20, 22-26
X	<p>DATABASE EMBLEST11 SEQ ID HSZZ32436 AC AA327384 EST30710 Colon I Homo sapiens cDNA 5', 18 April 1997 ADAMS M D ET AL.: "Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides of cDNA sequence" XP002059257 & NATURE., vol. 377supp, 28 September 1995, pages 3-174, LONDON GB</p> <p>---</p>	1,2, 14-20
X	<p>FR 2 737 500 A (BIO MERIEUX S.A.) 7 February 1997 cited in the application see the whole document</p> <p>---</p>	1-3,5, 13-20, 22-26
X	<p>WO 95 21256 A (BIO MERIEUX S.A.) 10 August 1995 cited in the application see the whole document</p> <p>---</p>	1-3,5, 13-20, 22-26
	<p>---</p> <p>-/--</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Application No
PCT/FR 98/01460

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	G. LA MANTIA ET AL.: "Identification and characterization of novel human endogenous retroviral sequences preferentially expressed in undifferentiated embryonal carcinoma cells" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 19, no. 7, 1991, pages 1513-1520, XP002059255 OXFORD GB see the whole document ---	1-3,5, 13-17, 22-24
P,X	H. PERRON ET AL.: "Molecular identification of a novel retrovirus repeatedly isolated from patients with multiple sclerosis" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 94, no. 14, 8 July 1997, pages 7583-7588, XP002059256 WASHINGTON US see the whole document ---	1-3,5, 13-20, 22-26
A	WO 94 28138 A (UNIVERSITY COLLEGE LONDON) 8 December 1994 see the whole document ---	1-3,5, 13-20, 22-26
A	WO 93 07259 A (SCLEROSE-FORENINGEN) 15 April 1993 see the whole document -----	1-3,5, 13-20, 22-26

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 98/01460

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Pr test



The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.



No protest accompanied the payment of additional search fees.

The International Searching Authority found several (groups of) inventions in the international application, namely:

1. Claims 5 (entirely), 1-3, 13-20, 22-26 (partially)

Nucleic material comprising a sequence SEQ ID N°: 112, or coding for a peptide with the sequence SEQ ID N°: 113, corresponding peptides, composition containing a fragment of said sequences and their use in a method for detecting a retrovirus associated with multiple sclerosis.

2. Claims: 10 (entirely) 1, 2, 7-9, 11-26 (partially)

As for invention 1 but concerning SEQ ID N°: 114, SEQ ID N°: 115, SEQ ID N°: 117, SEQ ID N°: 118, SEQ ID N°: 120, and SEQ ID N°: 121.

3. Claims: 1, 3, 13-15, 18, 19, 21-26 (all partially)

As for invention 1 but concerning SEQ ID N°: 124.

4. Claims: 1, 2, 4, 6, 13-19, 21-26 (all partially)

As for invention 1 but concerning SEQ ID N°: 130, SEQ ID N°: 131, SEQ ID N°: 135 and SEQ ID N°: 137.

5. Claims 1, 11, 13-15, 18-20, 22-26 (all partially)

As for invention 1 but concerning SEQ ID N°: 141 and SEQ ID N° 142.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat. Application No
PCT/98/01460

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9823755	A	04-06-1998	NONE	
FR 2737500	A	07-02-1997	AU 6823296 A	05-03-1997
			BG 101355 A	30-12-1997
			BR 9606566 A	30-12-1997
			CA 2201282 A	20-02-1997
			CZ 9701357 A	17-06-1998
			EP 0789077 A	13-08-1997
			WO 9706260 A	20-02-1997
			NO 971493 A	03-06-1997
			PL 319512 A	18-08-1997
WO 9521256	A	10-08-1995	FR 2715936 A	11-08-1995
			FR 2715938 A	11-08-1995
			FR 2715939 A	11-08-1995
			FR 2715937 A	11-08-1995
			FR 2727428 A	31-05-1996
			FR 2728585 A	28-06-1996
			AU 1711495 A	21-08-1995
			CA 2141907 A	05-08-1995
			DE 674004 T	19-09-1996
			EP 0674004 A	27-09-1995
			FI 954699 A	03-10-1995
			JP 8511170 T	26-11-1996
			NO 953925 A	04-12-1995
			NZ 279855 A	27-05-1998
			US 5800980 A	01-09-1998
WO 9428138	A	08-12-1994	AU 676568 B	13-03-1997
			AU 6760094 A	20-12-1994
			CA 2163641 A	08-12-1994
			EP 0700441 A	13-03-1996
			JP 8511936 T	17-12-1996
WO 9307259	A	15-04-1993	AU 664049 B	02-11-1995
			AU 2770992 A	03-05-1993
			CA 2121030 A	15-04-1993
			EP 0609305 A	10-08-1994

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

ant internationale No
PCT/FR 98/01460

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6 C12N15/48 C12Q1/70 C07K14/15 A61K31/70

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 C12N C07K C12Q A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
P,X	WO 98 23755 A (BIO MERIEUX) 4 juin 1998 voir le document en entier --- -/--	1-26

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

29 janvier 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

17.02.99

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Cupido, M

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>DATABASE EMBLHTG SEQ ID NO: HSAC64 Clone humain BAC RG083M05 de 7q21-7q22, 14 février 1997 PAULEY A: "The sequence of H. sapiens BAC clone RG083M05" XP002090413 Comparez des nucléotides 31070-32453 de RG083M05 avec nucléotides 120-1511 de SEQ ID NO:130, nucléotides 35881-37340 de RG085M05 avec nucléotides 1-1462 de SEQ ID NO:117, nucléotides 37331-37876 de RG083M05 avec nucléotides 70-620 de SEQ ID NO:114 et nucléotides 37333-38260 de RG083M05 avec nucléotides 330-1260 de SEQ ID NO:120</p> <p>---</p>	1-18, 22
X	<p>DATABASE EMBLHUM2 SEQ ID HSU85196 Homo sapiens BAC378, séquence complète, 27 mai 1997 BOYSEN C ET AL.: "Analysis of the 1.1-Mb human alpha/delta T-cell receptor locus with bacterial artificial chromosome clones" XP002090414 Comparez nucléotides 7150-7510 de HSU85196 avec nucléotides 1-361 de SEQ ID NO:141 et SEQ ID NO:142</p> <p>---</p>	1, 11, 13-15, 18-20, 22-26
X	<p>DATABASE EMBLEMEST11 SEQ ID HSZZ32436 AC AA327384 EST30710 Colon I Homo sapiens cDNA 5', 18 avril 1997 ADAMS M D ET AL.: "Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides of cDNA sequence" XP002059257 & NATURE., vol. 377supp, 28 septembre 1995, pages 3-174, LONDON GB</p> <p>---</p>	1, 2, 14-20
X	<p>FR 2 737 500 A (BIO MERIEUX S.A.) 7 février 1997 cité dans la demande voir le document en entier</p> <p>---</p>	1-3, 5, 13-20, 22-26
X	<p>WO 95 21256 A (BIO MERIEUX S.A.) 10 août 1995 cité dans la demande voir le document en entier</p> <p>---</p>	1-3, 5, 13-20, 22-26
	<p>---</p> <p>-/--</p>	

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	G. LA MANTIA ET AL.: "Identification and characterization of novel human endogenous retroviral sequences preferentially expressed in undifferentiated embryonal carcinoma cells" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 19, no. 7, 1991, pages 1513-1520, XP002059255 OXFORD GB voir le document en entier ----	1-3,5, 13-17, 22-24
P,X	H. PERRON ET AL.: "Molecular identification of a novel retrovirus repeatedly isolated from patients with multiple sclerosis" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 94, no. 14, 8 juillet 1997, pages 7583-7588, XP002059256 WASHINGTON US voir le document en entier ----	1-3,5, 13-20, 22-26
A	WO 94 28138 A (UNIVERSITY COLLEGE LONDON) 8 décembre 1994 voir le document en entier ----	1-3,5, 13-20, 22-26
A	WO 93 07259 A (SCLEROSE-FORENINGEN) 15 avril 1993 voir le document en entier -----	1-3,5, 13-20, 22-26

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. internationale n°
T/FR 98/01460

Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé qu certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n^{os} se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
2. ☐ Les revendications n^{os} se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3. ☐ Les revendications n^{os} sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

1. ☒ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n^{os}
4. ☐ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n^{os}

Remarque quant à la réserve

- ☒ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications: 5 (complètement), 1-3, 13-20, 22-26 (partiellement)

Matériel nucléaire comprenant une séquence SEQ ID NO:112, ou codant pour une peptide avec la séquence SEQ ID NO:113, peptides correspondants, compositions comprenant un fragment desdites séquences et leur utilisation dans un procédé pour détecter un rétrovirus associé à la sclérose en plaques.

2. revendications: 10 (complètement) 1, 2, 7-9, 11-26 (partiellement)

Comme pour l'invention 1 mais se rapportant à SEQ ID NO:114, SEQ ID NO:115, SEQ ID NO:117, SEQ ID NO:118, SEQ ID NO:120 et SEQ ID NO:121.

3. revendications: 1, 3, 13-15, 18, 19, 21-26 (toutes partiellement)

Comme pour l'invention 1 mais se rapportant à SEQ ID NO:124.

4. revendications: 1, 2, 4, 6, 13-19, 21-26 (toutes partiellement)

Comme pour l'invention 1 mais se rapportant à SEQ ID NO:130, SEQ ID NO:131, SEQ ID NO:135 et SEQ ID NO:137.

5. revendications: 1, 11, 13-15, 18-20, 22-26 (toutes partiellement)

Comme pour l'invention 1 mais se rapportant à SEQ ID NO:141 et SEQ ID NO:142.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres des familles de brevets

Demande internationale No

PCT/98/01460

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9823755 A	04-06-1998	AUCUN	
FR 2737500 A	07-02-1997	AU 6823296 A	05-03-1997
		BG 101355 A	30-12-1997
		BR 9606566 A	30-12-1997
		CA 2201282 A	20-02-1997
		CZ 9701357 A	17-06-1998
		EP 0789077 A	13-08-1997
		WO 9706260 A	20-02-1997
		NO 971493 A	03-06-1997
		PL 319512 A	18-08-1997
WO 9521256 A	10-08-1995	FR 2715936 A	11-08-1995
		FR 2715938 A	11-08-1995
		FR 2715939 A	11-08-1995
		FR 2715937 A	11-08-1995
		FR 2727428 A	31-05-1996
		FR 2728585 A	28-06-1996
		AU 1711495 A	21-08-1995
		CA 2141907 A	05-08-1995
		DE 674004 T	19-09-1996
		EP 0674004 A	27-09-1995
		FI 954699 A	03-10-1995
		JP 8511170 T	26-11-1996
		NO 953925 A	04-12-1995
		NZ 279855 A	27-05-1998
		US 5800980 A	01-09-1998
WO 9428138 A	08-12-1994	AU 676568 B	13-03-1997
		AU 6760094 A	20-12-1994
		CA 2163641 A	08-12-1994
		EP 0700441 A	13-03-1996
		JP 8511936 T	17-12-1996
WO 9307259 A	15-04-1993	AU 664049 B	02-11-1995
		AU 2770992 A	03-05-1993
		CA 2121030 A	15-04-1993
		EP 0609305 A	10-08-1994